

Meinen
Eltern und Großeltern
gewidmet

**Die Rolle des Serotonin_{1A}-Rezeptors bei den akuten
neurochemischen- und Verhaltenseffekten von
Kokain**

Inaugural-D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Christian Peter Müller

aus Annaberg-Buchholz

Düsseldorf

2003

Aus dem Institut für Physiologische Psychologie I
der Heinrich-Heine-Universität

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. J.P. Huston
Korreferent: Prof. Dr. C. Kirschbaum

Tag der mündlichen Prüfung: 24.11.2003

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Zustandekommen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. J.P. Huston für die Möglichkeit, an seinem Institut zum Thema dieser Arbeit forschen zu dürfen, für die Freiheit, eigene Ideen zu verwirklichen, für die Geduld während der Erprobung schwieriger Analysemethoden, für das produktive und freundschaftliche Arbeitsklima und die hervorragende Betreuung während der gesamten Zeit.

Bei Herrn Prof. Dr. C. Kirschbaum möchte ich mich für die Übernahme des Korreferates bedanken.

Mein Dank gilt weiterhin Frau Dr. Angelica De Souza Silva für die unkomplizierte und stets hilfsbereite Unterstützung bei der Durchführung der Experimente.

Weiterhin danke ich Frau cand. psychol. Heike Thönnnessen, Herrn Dipl.Psych. Gerhard Jocham und Frau Dr. Jasmin Salloum für die angenehme Zusammenarbeit bei der Auswertung der Experimente, sowie Herrn Günther Abel für die Unterstützung bei der Erstellung der Grafiken.

Mein Dank gilt auch allen Kolleginnen und Kollegen des Institutes für Physiologische Psychologie I für die gute Arbeitsatmosphäre und die zahlreichen Diskussionen. Insbesondere danke ich Frau Dipl.Psych. Bianca Topic für die Hilfe bei allen administrativen Belangen und Herrn Dipl.Psych. Ekrem Dere für die stetige Erweiterung des wissenschaftlichen und kulturellen Horizontes.

Zusammenfassung

Kokain ist eine seit langem bekannte Suchtdroge mit einem hohen Missbrauchspotential. Zu den akuten Verhaltenseffekten von Kokain gehört die Induzierung von Hyperaktivität. Obwohl Kokain bereits seit langer Zeit untersucht wird, ist das Verständnis der neurochemischen Prozesse im Gehirn, die den akuten Verhaltenseffekten zugrunde liegen, bisher nur unzureichend. Lange Zeit galt ein Anstieg der extrazellulären Dopamin (DA)-Konzentration im Nucleus accumbens (Nac) als kausaler neurochemischer Mechanismus für die Verhaltenseffekte von Kokain. Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass die Effekte von Kokain im dopaminergen System für eine Erklärung der Verhaltenseffekte nicht ausreichend sind. Zusätzlich sind noch die Effekte von Kokain im serotonergen (5-HT) System mitverantwortlich. Innerhalb des serotonergen Systems spielt der 5-HT_{1A}-Rezeptor eine wichtige Rolle. Serotonin_{1A}-Rezeptoren regulieren einerseits als somatodendritische Autorezeptoren an serotonergen Neuronen deren Feuerfrequenz, andererseits als postsynaptische Rezeptoren in serotonergen Terminalgebieten die Aktivität anderer Neurone. In dieser Arbeit sollte die Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei den akuten neurochemischen- und Verhaltenseffekten von Kokain untersucht werden. Um die Effekte einer pharmakologischen Manipulation des 5-HT_{1A}-Rezeptors auf die extrazelluläre DA- bzw. 5-HT-Konzentration und die Verhaltensaktivität parallel messen zu können, wurde in allen Experimenten die Methode der in-vivo Mikrodialyse an der frei beweglichen Ratte verwendet. Die dabei gewonnenen Mikrodialyse Proben wurden dann mittels hochauflösender Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit elektrochemischer Detektion (HPLC-EC) untersucht.

Verschiedene Studien haben bereits gezeigt, dass die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors mittels WAY100635 zu einer Inhibition der Kokain-induzierten Hyperaktivität führt. Der neurochemische Mechanismus, der dieser Inhibition zugrunde lag, war aber bisher unklar. Die Ergebnisse von Experiment I zeigten, dass die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors zu einer deutlich verminderten Hyperlokomotion nach Kokain führt. Der Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration im Nac war jedoch nicht verändert. Die Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors führte zwar zu einem Anstieg im Putzverhalten, hatte aber keinen Einfluss auf die spontane Lokomotion oder die basale DA-Konzentration im Nac. Aus diesen

Ergebnissen wurde geschlussfolgert, dass ein Anstieg der DA-Konzentration im Nac nach Kokain möglicherweise eine notwendige, aber keine hinreichende Bedingung für die Expression von Hyperlokomotion ist. Weiterhin wurde geschlussfolgert, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptor unter Ruhebedingungen weder an der Regulierung der spontanen Lokomotion noch an der Regulierung der DA-Aktivität im Nac beteiligt ist. Mit dem 5-HT_{1A}-Rezeptor wurde eine wichtige Komponente des serotonergen Systems manipuliert. Daher erschien es wahrscheinlich, dass der Anstieg der 5-HT-Konzentration nach Kokain im Nac und/oder in anderen, für die Induktion von Lokomotion relevanten Hirnstrukturen verändert war. In Experiment II konnte daraufhin gezeigt werden, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus zu einer Inhibierung der Kokain-induzierten Hyperaktivität und parallel zu einer Potenzierung des 5-HT- Anstiegs im Nac und im Hippocampus führt. Der Hippocampus ist ein wichtiger Eingang in den Nac, der zum einen ebenfalls einer starken serotonergen Innervierung unterliegt und der zum anderen über die Projektion zum Nac an der Induktion spontaner lokomotorischer Aktivität beteiligt ist. Aus diesen Ergebnissen wurde abgeleitet, dass der Anstieg der 5-HT-Konzentration im Nac und im Hippocampus möglicherweise ein limitierender Faktor bei der neurochemischen Mediierung der akuten Kokain-induzierten Hyperlokomotion ist. Um diese Hypothese zu testen, wurden in Experiment III die Effekte pharmakologischer 5HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung mittels 8-OH-DPAT auf Kokain-induziertes Verhalten und die 5-HT-Konzentration im Nac und Hippocampus untersucht. Dabei wurde gefunden, dass 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus die Kokain-induzierte Hyperlokomotion potenziert, wobei der Anstieg der 5-HT-Konzentration im Nac und Hippocampus deutlich abgeschwächt war. Diese Befunde unterstützen die Annahme einer limitierenden Rolle des 5-HT-Anstiegs im Nac und Hippocampus bei den akuten Verhaltenseffekten von Kokain. Die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors allein führte zu einem kurzzeitigen Anstieg der Lokomotion und tendenziell zu einem Abfall der 5-HT-Konzentration in beiden Hirnstrukturen, was für eine Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei der Regulierung der basalen 5-HT-Konzentration spricht. Die Beteiligung des Nac an der neurochemischen Mediierung der Verhaltenseffekte von Kokain gilt als erwiesen. Unklar war bisher jedoch, inwieweit der Hippocampus, eine häufig mit Lernen und Gedächtnis assoziierte Struktur, ebenfalls an der Organisation der Verhaltenseffekte von Kokain beteiligt ist. In Experiment II konnte erstmals nachgewiesen werden, dass Kokain zu einem Anstieg der 5-HT-

Konzentration im Hippocampus führt. Zudem weist der Hippocampus im Gegensatz zum Nac eine sehr hohe 5-HT_{1A}-Rezeptordichte auf. In Experiment IV sollte deshalb untersucht werden, welche Rolle speziell die hippocampalen 5-HT_{1A}-Rezeptoren bei den akuten neurochemischen- und Verhaltenseffekten von Kokain spielen. Mittels reverser Dialyse wurden selektiv hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptoren aktiviert. Es konnte gezeigt werden, dass hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus zu einer Abschwächung der Hyperlokomotion nach Kokain führt. Gleichzeitig wurde ein ebenfalls abgeschwächter 5-HT-Anstieg im Hippocampus, nicht aber im Nac, nach Kokain beobachtet. Diese Ergebnisse sprechen für eine inhibitorische Rolle hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren und damit für eine Beteiligung des Hippocampus an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain. Zudem konnte gezeigt werden, dass hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptoren ebenfalls inhibitorisch auf den Kokain-induzierten Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus wirken. Die Beobachtung, dass hippocampale und systemische 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung die Kokain-induzierte Hyperlokomotion in unterschiedliche Richtungen beeinflusst, legt die Vermutung nahe, dass verschiedene 5-HT_{1A}-Rezeptor Populationen im Gehirn unterschiedliche und zum Teil sogar entgegengesetzte Rollen bei den akuten Verhaltenseffekten von Kokain spielen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit haben gezeigt, dass die akuten Verhaltenseffekte von Kokain durch Blockade und Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors in entgegengesetzte Richtungen manipuliert werden können. Die pharmakologische Manipulation der akuten Verhaltenseffekte von Kokain wird dabei nicht durch eine veränderte DA-Antwort im Nac vermittelt, sondern geht mit einer potenzierten oder abgeschwächten 5-HT-Antwort im Nac und im Hippocampus einher. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus die akuten Verhaltenseffekte von Kokain limitieren und an der Regulierung des lokalen 5-HT-Anstiegs nach Kokain beteiligt sind.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	12
1.1	Kokain.....	12
1.1.1	Einführende Bemerkungen	12
1.1.2	Applikationsformen und Konsummuster von Kokain	13
1.1.3	Pharmakologie und Metabolismus von Kokain.....	15
1.1.4	Akuteffekte von Kokain.....	16
1.1.4.1	Akute physiologische Effekte von Kokain.....	17
1.1.4.2	Akute subjektive und Verhaltenseffekte von Kokain.....	17
1.1.4.3	Akute neurochemische Effekte von Kokain.....	18
1.1.5	Langzeiteffekte von Kokain.....	19
1.2	Das serotonerge System des Gehirns	20
1.2.1	Serotonerge Neurone und Kerngebiete	20
1.2.2	Afferenzen serotonerger Neurone	21
1.2.3	Efferenzen serotonerger Neurone	22
1.2.4	Mikrostruktur und Volumentransmission im serotonergen System	23
1.2.5	Die Aktivität serotonerger Neurone	24
1.2.6	Die serotonerge Synapse.....	25
1.2.7	Serotonerge Rezeptoren und ihre Funktion.....	27
1.2.7.1	Pharmakologie des Serotonin _{1A} -Rezeptors.....	27
1.2.7.2	Der Serotonin _{1A} -Rezeptor und Verhalten	29
1.2.7.3	Andere Serotonin-Rezeptoren.....	31
1.2.8	Das serotonerge System und Kokain.....	33
1.2.8.1	Serotonin und die akuten Verhaltenseffekte von Kokain	34
1.2.8.2	Serotonin und die akuten neurochemischen Effekte von Kokain	37
1.2.8.3	Serotonin und die Langzeiteffekte von Kokain	38
1.3	Der Nucleus accumbens	40
1.3.1	Anatomie des Nucleus accumbens	40
1.3.1.1	Afferenzen und Efferenzen des Nucleus accumbens.....	41
1.3.2	Neuronale Aktivität im Nucleus accumbens	41

1.3.3	Der Nucleus accumbens und das Belohnungssystem des ZNS	43
1.3.4	Der Nucleus accumbens und Kokain	44
1.4	Der Hippocampus	45
1.4.1	Anatomie des Hippocampus	45
1.4.1.1	Afferenzen und Efferenzen des Hippocampus	46
1.4.2	Die Funktion des Hippocampus	48
1.4.3	Der Hippocampus und Kokain.....	49
1.5	Ziele und Fragestellungen.....	50
2	Methoden	55
2.1	Theoretischer Teil.....	55
2.1.1	Das Prinzip der in-vivo Mikrodialyse	55
2.1.2	Aufbau und Funktion einer Mikrodialysesonde.....	60
2.1.3	Das Prinzip der HPLC-EC	61
2.1.4	Die Verhaltensmessung	63
2.2	Praktischer Teil	65
2.2.1	Die Versuchstiere	65
2.2.2	Versuchsvorbereitung I: Die stereotaktische Operation.....	65
2.2.3	Versuchsvorbereitung II: Die Herstellung der Mikrodialysesonden....	66
2.2.4	Versuchsvorbereitung III: Die HPLC-EC.....	68
2.2.4.1	Die HPLC-EC von Dopamin	68
2.2.4.2	Die HPLC-EC von Serotonin	68
2.2.4.3	Inbetriebnahme und Instandhaltung der HPLC-EC	69
2.2.5	Die Versuchsanordnung	69
2.2.6	Das Versuchsprotokoll	70
2.2.7	Histologie	72
2.2.8	Auswertung und Statistik.....	73

3	Experimente.....	74
3.1	Experiment I	74
3.1.1	Einleitung	74
3.1.2	Spezielle Methoden.....	75
3.1.3	Ergebnisse.....	75
3.1.3.1	Histologie	75
3.1.3.2	Verhalten.....	76
3.1.3.3	Neurochemie	81
3.1.4	Diskussion.....	83
3.1.4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	83
3.1.4.2	5-HT _{1A} -Rezeptor Antagonismus und die Verhaltenseffekte von Kokain.....	84
3.1.4.3	5-HT _{1A} -Rezeptor Antagonismus und die Effekte von Kokain im dopaminergen System	85
3.1.4.4	5-HT _{1A} -Rezeptor Antagonismus und spontanes Verhalten.....	86
3.1.4.5	5-HT _{1A} -Rezeptor Antagonismus und das dopaminerge System	87
3.2	Experiment II	88
3.2.1	Einleitung	88
3.2.2	Spezielle Methoden.....	89
3.2.3	Ergebnisse.....	90
3.2.3.1	Histologie	90
3.2.3.2	Verhalten.....	91
3.2.3.3	Neurochemie	95
3.2.4	Diskussion.....	99
3.2.4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	99
3.2.4.2	5-HT _{1A} -Rezeptor Antagonismus und die Verhaltenseffekte von Kokain.....	100
3.2.4.3	5-HT _{1A} -Rezeptor Antagonismus und die Effekte von Kokain im serotonergen System	100
3.2.4.4	5-HT _{1A} -Rezeptor Antagonismus und spontanes Verhalten.....	105
3.2.4.5	5-HT _{1A} -Rezeptor Antagonismus und das serotonerge System	105

3.3	Experiment III	106
3.3.1	Einleitung	106
3.3.2	Spezielle Methoden.....	106
3.3.3	Ergebnisse.....	107
3.3.3.1	Histologie	107
3.3.3.2	Verhalten.....	107
3.3.3.3	Neurochemie	111
3.3.4	Diskussion.....	115
3.3.4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	115
3.3.4.2	5-HT _{1A} -Rezeptor Agonismus und die Verhaltenseffekte von Kokain.....	116
3.3.4.3	5-HT _{1A} -Rezeptor Agonismus und die Effekte von Kokain im serotonergen System	118
3.3.4.4	5-HT _{1A} -Rezeptor Agonismus und spontanes Verhalten.....	121
3.3.4.5	5-HT _{1A} -Rezeptor Agonismus und das serotonerge System.....	122
3.4	Experiment IV	123
3.4.1	Einleitung	123
3.4.2	Spezielle Methoden.....	124
3.4.3	Ergebnisse.....	125
3.4.3.1	Histologie	125
3.4.3.2	Verhalten.....	126
3.4.3.3	Neurochemie	132
3.4.4	Diskussion.....	139
3.4.4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	139
3.4.4.2	Hippocampaler 5-HT _{1A} -Rezeptor Agonismus und die Verhaltenseffekte von Kokain.....	139
3.4.4.3	Hippocampaler 5-HT _{1A} -Rezeptor Agonismus und die Effekte von Kokain im serotonergen System	142
3.4.4.4	Hippocampaler 5-HT _{1A} -Rezeptor Agonismus und spontanes Verhalten.....	143
3.4.4.5	Hippocampaler 5-HT _{1A} -Rezeptor Agonismus und das serotonerge System.....	144

4	Zusammenfassende Diskussion und Ausblick.....	145
5	Literatur.....	151
6	Anhang.....	191
6.1	Reinigung und Inbetriebnahme der HPLC-Anlage.....	191
6.2	Nissl-Färbung mit gepuffertem Kresylviolett	192
6.3	Gelatinisieren der Objektträger	193
6.4	Perfusionsflüssigkeiten für die transcardiale Perfusion.....	194

1 Einleitung

1.1 Kokain

1.1.1 Einführende Bemerkungen

Kokain, ein weißes, kristallines Pulver mit bitterem Geschmack, ist das Hauptalkaloid von *Erythroxylon coca*, einer Pflanze, die in den Anden und in der nordwestlichen Amazonas-Region wächst (Ehleringer et al., 2000). Die Pflanze wird in diesen Regionen bereits seit der Antike kultiviert. Je nach Anbaugebiet werden die Blätter mit Lehm oder Asche gekaut bzw. pulverisiert und zusammen mit anderen alkalischen Substanzen geschluckt (Johanson & Fischman, 1989). Obwohl die Wirkung der Koka-Blätter seit der Eroberung Südamerikas durch die Spanier bekannt war, ist Kokain in Europa erst seit etwas mehr als 100 Jahren im Gebrauch. Es wurde 1855 von dem deutschen Chemiker Niemann aus der Pflanze isoliert und stand seitdem auch systematischer wissenschaftlicher Erforschung zur Verfügung. Sigmund Freud, der Kokain als Medikament gegen Asthma, Verdauungsstörungen, als Aphrodisiakum und gegen Alkohol- und Morphinabhängigkeit empfahl, konnte als erster dessen Wirkung als Stimulans des Zentralnervensystems (ZNS) nachweisen (Freud, 1884). Aufgrund des hohen Missbrauchspotentials und seiner Toxizität in höheren Dosen wurde es aber wenig später verboten (Johanson & Fischman, 1989). Kokain gilt heute als Suchtdroge mit hohem Missbrauchspotential, die bei längerer Einnahme zu schweren gesundheitlichen Schäden für den Einzelnen, aber auch zu weitreichenden sozialen, gesellschaftlichen und ökonomischen Schäden führen kann (Martin, 1977; Altman et al., 1996). Kokainsucht ist nach DSM-IV als psychiatrische Erkrankung klassifiziert, für die es bislang nur unzureichende pharmakologische- oder Verhaltenstherapien gibt. Die Erforschung der Verhaltenseffekte von Kokain und der ihnen zugrunde liegenden neurochemischen Mechanismen im ZNS sind eine wichtige Voraussetzung für ein besseres Verständnis der physiologischen Prozesse, die der Kokainsucht zugrunde liegen. Zugleich sind sie aber auch die Basis für die Entwicklung besserer Therapiemaßnahmen (LeSage et al., 1999).

1.1.2 Applikationsformen und Konsummuster von Kokain

„Kokain“ bezeichnet zumeist Kokain-Hydrochlorid, das Chlor-Salz der in Koka-Blättern vorkommenden Kokain-Base. Alle weiteren Verwendungen dieses Begriffes werden sich darauf beziehen. Menschen nehmen Kokain zumeist in Pulverform intranasal (i.n.), intravenös (i.v.) oder oral auf. Da Kokain nicht thermostabil ist, kommt es bei der Verbrennung, z.B. in einer Zigarette, zur Zerstörung der Substanz. Kokain kann aber mittels einfacher chemischer Prozesse in die freie Base überführt werden, die je nach Herstellungsverfahren als „Crack“ oder auch „Freebase“ bekannt ist. Die freie Kokain-Base ist thermostabil, was das Rauchen der Substanz erlaubt (für eine Übersicht siehe: Iten 1994).

Kokain-Missbrauch beim Menschen kann in „Freizeitgebrauch“ und Kokainsucht unterteilt werden, wobei sich die Folgen des jeweiligen Kokain-Konsums für den Einzelnen, seine unmittelbare Umwelt, aber auch die Gesellschaft sehr stark unterscheiden. Freizeit- oder auch Gelegenheitskonsumenten nehmen in größeren zeitlichen Abständen von Tagen bis Wochen kleinere Mengen Kokain zu sich, wobei die intranasale Applikation überwiegt. Eine Vielzahl von Freizeitkonsumenten findet sich dabei in gesellschaftlichen Gruppierungen, die Clubs und Events besuchen und dort Kokain intranasal konsumieren. Sie gehören in der Regel nicht sozialen Randgruppen, wie obdachlosen Jugendlichen oder Prostituierten, an (EBDD, 2001). Der Freizeitkonsum von Kokain gilt allgemein als kontrollierbar. Es treten keine oder nur milde Entzugssymptome auf. Von europäischen Gesundheitsdiensten werden nur selten gesundheitliche Beschwerden oder Todesfälle im Zusammenhang mit einem gelegentlichen Kokain-Konsum berichtet. Freizeitkonsumenten sind meistens selbst in der Lage, den Kokain-Konsum zu beenden. Gründe für einen Abbruch der Einnahme können zu hohe Kosten, limitierte Verfügbarkeit, Libido-Verlust, aber auch zerstörte Nasenschleimhäute und andere Nebeneffekte sein (Gawin, 1991). Hinzu kommt, dass viele Personen, die sich Kokain zum ersten Mal selbst applizieren, keine Euphorie empfinden, sondern starke Angstgefühle und Dysphorie (Post et al., 1974). Häufig wird in solchen Fällen von einer weiteren Einnahme abgesehen. Schätzungen gehen davon aus, dass nur etwa 10-15% der intranasalen Initialkonsumenten auch später eine Kokain-Abhängigkeit entwickeln (Gawin, 1991). Welche Faktoren zum Übergang vom Kokain-Freizeitkonsum zur Kokainsucht führen, ist gegenwärtig noch unklar. Bisher gibt es noch keine gesicherten Befunde, die einen bestimmten Persönlichkeitstyp für die Entwicklung von Kokainsucht

identifiziert haben. Generell nimmt man jedoch an, dass bei besonders risikofreudigen und impulsiven Persönlichkeitstypen mit schlechten Entscheidungsfähigkeiten das Risiko einer Entwicklung von Drogenabhängigkeit erhöht ist (Altman et al., 1996). Tierexperimentelle Studien haben gezeigt, dass Ratten, die mit hoher explorativer Aktivität auf eine neue Umgebung reagieren, sich auch mehr Psychostimulantien selbst verabreichen und auch stärker darauf reagieren als Ratten, die in einer neuen Umgebung weniger aktiv waren (Hooks et al., 1991; Dellu et al., 1996). Zahlreiche Befunde weisen auf einen Zusammenhang zwischen Neuigkeitssuche/Erregungssuche und einem erhöhten Risiko für Drogenmissbrauch auch beim Menschen hin (Bardo et al., 1996; Zuckerman, 1996). Es gilt ebenfalls als gesichert, dass Personen mit prämorbid psychischen Störungen, wie Ängsten oder depressiven Verstimmungen, besonders anfällig für einen Kontrollverlust bei Drogenkonsum sind (Altman et al., 1996; Robbins & Everitt, 1999).

Der Übergang vom Freizeitkonsumenten zum Kokain-Süchtigen vollzieht sich meist über 2-4 Jahre, wobei die eingenommene Dosis stetig erhöht wird (Gawin, 1991). Häufig wechselt die Applikationsform von intranasal zu intravenös oder zum Rauchen von „Crack“ oder „Freebase“. Der exzessive Kokain-Konsum bei Süchtigen folgt zumeist einem bestimmten Muster, das auch als „Binge-Taking“ bezeichnet wird (Gawin, 1991). Beim Binge-Taking wird Kokain so lange in kurzen Abständen von 10 bis 30 Minuten selbst verabreicht, bis kein Kokain unmittelbar mehr verfügbar ist (Gawin, 1991). In Tierversuchen, in denen sich Ratten durch Hebeldrücken Kokain selbst verabreichen konnten, wurde bei unbegrenzter Verfügbarkeit von Kokain ebenfalls die Ausbildung von Binge-Taking beobachtet. Perioden der Selbstverabreichung alternierten mit Perioden der Abstinenz ähnlich wie beim Menschen (Gardner, 1997). Tiere verabreichten sich Kokain in kurzen Abständen selber und waren bereit, hohe Leistungen (Hebeldrücke) für die nächste Kokain-Injektion zu erbringen. Bei unbegrenztem Zugang führte die Kokain-Selbstverabreichung bei Ratten häufig zum Tod durch Überdosierung innerhalb von 14 Tagen, verursacht durch einen kardiopulmonaren Kollaps (Johanson & Fischman, 1989). Beim Menschen, bei dem in der Regel die unmittelbare Verfügbarkeit von Kokain begrenzt ist, wird während einer „Binge-Phase“, aufgrund der Entwicklung akuter Toleranz gegenüber den euphorischen und physiologischen Effekten (Fischman et al., 1985; Foltin & Fischman, 1991), die Dosis kontinuierlich gesteigert. Während einer Binge-Phase treten Phasen extremer Euphorie auf. Alle Gedanken

sind nur noch auf Kokain fixiert. Alle bisher bekannten natürlichen Verstärker, wie Nahrung, soziale Kontakte oder Geld, verlieren fast komplett an Bedeutung. Eine solche Binge-Phase dauert zwischen 4 und 24 Stunden. Bei Kokain-Abhängigkeit werden 1-7 Binge-Phasen pro Woche berichtet, wobei zwischen einzelnen Binge-Phasen mehrere Tage Abstinenz liegen können (Gawin, 1991). Während dieser Zeit nimmt das Verlangen nach Kokain (engl.: craving) kontinuierlich zu, was zu erneutem Binge-Taking führt (Gardner & Lowinson, 1993). Bei völliger Abstinenz, d.h. nicht Wiederaufnahme des Binge-Taking, folgen lang anhaltende schwere Entzugssymptome (Gawin & Kleber, 1986). Das erneute Einsetzen von Binge-Taking geschieht deshalb bei Kokain-Süchtigen nicht nur, um die Euphorie während einer Binge-Phase wiederzuerlangen, sondern auch, um die starke Dysphorie und Anhedonie, die darauf folgt, zu vermeiden (Koob et al., 1998). Todesfälle und gesundheitliche Komplikationen gehen zumeist auf dieses Einnahmemuster verbunden mit dem Mischkonsum anderer Drogen zurück (Kraus et al., 2001).

1.1.3 Pharmakologie und Metabolismus von Kokain

Kokain ist gut wasser- und fettlöslich. In Abhängigkeit von der Applikationsform werden Peak-Plasamalevel innerhalb von 1-2 Minuten nach intravenöser Einnahme oder nach Rauchen bzw. innerhalb von 30 Minuten nach intranasaler oder oraler Gabe erreicht (für einen Überblick siehe: Iten, 1994). Geraucht wird Kokain sehr effizient absorbiert, wobei der zeitliche Verlauf der Plasmakonzentration zwischen intravenöser Gabe und Rauchen nicht unterschieden werden kann. Generell sind der zeitliche Verlauf der Kokain-Plasmakonzentration und die maximale Kokain-Plasmakonzentration dosisabhängig.

Aufgrund seiner guten Fettlöslichkeit kann Kokain leicht Membranbarrieren, wie die Blut-Hirn-Schranke, passieren und so schnell ins Hirn gelangen. Kokain reichert sich schnell im Gehirn an. Barbieri und Mitarbeiter (1992) fanden bei Ratten 20 Minuten nach intravenöser Gabe ein Konzentrationsverhältnis Cerebrospinalflüssigkeit zu Plasma von 1.6 bis 1.9 in Abhängigkeit von der verabreichten Konzentration. Im Gehirn bindet Kokain mit unterschiedlicher Affinität am Dopamin- (DAT), Serotonin- (SERT) und am Noradrenalintransporter (NAT; Koe, 1976; Ritz et al., 1990). Calligaro und Eldefrawi (1987) konnten im Rattenhirn hoch affine und niedrig affine Bindungsstellen für Kokain identifizieren, wobei die stärkste Kokain-Bindung im

Striatum beobachtet wurde. Das Striatum wies zudem das höchste Verhältnis von hoch affinen zu niedrig affinen Bindungsstellen auf. Eine erhöhte Kokain-Bindung im Striatum konnte auch in Positronen Emissions Tomographie (PET)-Studien bei Baboons und Menschen bestätigt werden (Fowler et al., 1989). Insbesondere das ventrale Striatum umfasst mit dem Nucleus accumbens (Nac) ein Hirngebiet, das nicht nur stark serotonerg, dopaminerg und noradrenerg innerviert (Pennartz et al., 1994), sondern auch als essentielle Struktur für die Mediation zahlreicher Effekte von Suchtdrogen auf das Verhalten angesehen wird (Gardner, 1997; Wise, 1998; McBride et al., 1999).

Kokain wird im Plasma und in der Leber metabolisiert (Stewart et al., 1979; Bosron et al., 1997), wobei bisher noch unklar ist, ob Kokain auch im Gehirn abgebaut wird. Zum einen wird Kokain durch spontane Hydrolyse zu Benzoyllecgonin (BZE) und zum anderen durch Cholinesterasen zu Ecgonin-methylester (EME) umgesetzt (Stewart et al., 1977, 1979; Isenschmidt et al., 1989). Die beiden Hauptmetaboliten BZE und EME entstehen dabei in etwa gleichen Mengen (Jones, 1997). Neben den Hauptmetaboliten BZE und EME entstehen auch noch kleinere Mengen Ecgonin und Norkokain und verschiedene weitere Hydroxylierungsprodukte (Johanson & Fischman, 1989). Alle Kokain Metaboliten sind gut wasserlöslich, aber schlechter fettlöslich als Kokain. Verschiedene Studien haben zudem gezeigt, dass BZE sich nicht nur im Gehirn anreichert (Barbieri et al., 1992), sondern auch selbst physiologische Effekte haben kann (Madden et al., 1995; Schuelke et al., 1996).

Kokain und seine Metaboliten werden über Urin und Schweiß ausgeschieden bzw. lagern sich in Haaren und Fingernägeln ein (Joseph et al., 1999). Etwa 1-5% des eingenommenen Kokains werden unverändert wieder ausgeschieden, jeweils etwa 45% werden zu BZE oder EME metabolisiert und ausgeschieden (Jones, 1997).

1.1.4 Akuteffekte von Kokain

Unter Akuteffekten sollen die Effekte von Kokain im naiven Organismus betrachtet werden, d.h. bei Menschen bzw. Tieren ohne Kokain-Vorerfahrungen, die unmittelbar nach einmaliger Applikation zu beobachten sind.

1.1.4.1 Akute physiologische Effekte von Kokain

Kokain führt akut zu einem Anstieg der Herzfrequenz und des Blutdrucks, wobei die Körpertemperatur und Atmung durch Kokain nicht verändert werden (Resnick et al., 1977; Javaid et al., 1978; Muntaner et al., 1989). Neben den direkten Effekten auf monoaminerge Transmissionssysteme im ZNS führt Kokain über einen α -adrenergen Mechanismus zur Kontraktion cerebraler Arterien (Madden & Powers, 1990; Madden et al., 1995) und zu einer verringerten globalen (London et al., 1999) und lokalen cerebralen Durchblutung (Pearlson et al., 1993). In Experimenten an Ratten wurde aber auch eine Erhöhung der cerebralen Durchblutung nachgewiesen (Stein & Fuller, 1992). Nach akuter Kokain-Gabe wurde zudem ein reduzierter Glucose-Metabolismus im ZNS beobachtet (Volkow et al., 1992; London et al., 1996).

1.1.4.2 Akute subjektive und Verhaltenseffekte von Kokain

Der prominenteste Akuteffekt von Kokain ist der gleichzeitig experimentell am schwierigsten zugängliche: das subjektive Empfinden von „Euphorie“ oder einem „Hochgefühl“ (Resnick et al., 1977; van Dyke et al., 1976; 1978; Javaid et al., 1978). Weitere Effekte auf das subjektive Empfinden sind ein gehobenes Selbstwertgefühl und schnellere Denkabläufe (van Treeck, 1997). Die Messung dieser Akuteffekte von Kokain kann nur mittels Fragebögen oder direkt verbal erfolgen. Im Tiermodell kann nur indirekt auf eine derartige Wirkung geschlossen werden. Aus der Beobachtung einer erhöhten Auftretenswahrscheinlichkeit bestimmter, mit Kokain gepaarter Verhaltensweisen, kann auf eine Verstärkerwirkung von Kokain und damit indirekt auf „Euphorie“ bzw. „Hedonie“ geschlossen werden. Zu diesen Verhaltensweisen gehören beispielsweise das vermehrte Hebeldrücken bei Kokain-Selbstapplikation oder das vermehrte Aufsuchen bestimmter Orte bei der konditionierten Platzpräferenz (Tzschentke 1998; McBride et al., 1999). In Humanstudien wurde allerdings nicht von allen Personen ein subjektives „Euphorie“ Gefühl berichtet. Ein bestimmter Anteil der Kokain-Konsumenten berichtet Dysphorie oder Angst nach akuter Kokain Einnahme (Post et al., 1974; Resnick et al., 1977). In tierexperimentellen Studien konnte ebenfalls eine Angst-induzierende Wirkung von Kokain nachgewiesen werden (Costall et al., 1989; Yang et al., 1992). Sowohl beim Menschen als auch im Tiermodell moduliert Kokain die lokomotorische Aktivität in Abhängigkeit von der verabreichten Dosis. In sehr geringen Dosierungen inhibiert

Kokain lokomotorische Aktivität im Tiermodell (George 1989; 1990). In mittleren Dosierungen erhöht Kokain die Lokomotion (Tatum & Seevers, 1929; Kelley & Iversen, 1976; Scheel-Krüger et al., 1977). In hohen und sehr hohen Dosierungen hat Kokain keinen oder einen inhibitorischen Effekt auf die Lokomotion, wobei Verhaltensstereotypien auftreten können (Downs & Eddy, 1932; Fog, 1969; Scheel-Krüger et al., 1977). Kokain inhibiert zudem im Tiermodell Putz-Verhalten (van der Hoek & Cooper, 1990; Cooper & van der Hoek, 1993; Carey et al., 2001; 2002) und Fress- und Trink-Verhalten (van Rossum & Simons, 1969, Heffner et al., 1977, Balopole et al., 1979; Foltin et al., 1990; Rapoza & Woolverton, 1991). In Humanstudien wird ein verringertes Hungergefühl berichtet (Resnick et al., 1977).

1.1.4.3 Akute neurochemische Effekte von Kokain

Kokain bindet im ZNS unterschiedlich stark am DAT, SERT und NAT. Die Affinität für Monoamintransporter ist dabei: SERT > DAT > NAT (Koe, 1976, Ritz et al., 1990). Die Transporter der jeweiligen Neurotransmitter Dopamin (DA), Serotonin (5-HT) und Noradrenalin (NA) befinden sich am Soma und an den Terminalen dopaminerg, serotonerg und noradrenerg Projektionsneurone. Die Funktion der Monoamintransporter ist die Entfernung ausgeschütteten Transmitters aus dem Extrazellulärraum (Feldman et al., 1997). Werden die Transporter pharmakologisch blockiert, kommt es zu einer verringerten Wiederaufnahme des ausgeschütteten Transmitters aus dem Extrazellulärraum. Die extrazelluläre Konzentration des jeweiligen Transmitters steigt an, was letztlich zu einer verstärkten Aktivierung der Rezeptoren dieses Transmitters führt. Ein Anstieg der extrazellulären Transmitterkonzentration im Bereich des Somas und auch in verschiedenen Projektionsgebieten wurde für DA (z.B. Di Chiara & Imperato, 1988; Parsons & Justice, 1993; Reith et al., 1997), 5-HT (Parsons & Justice, 1993; Rutter et al., 1998; Andrews & Lucki, 2001) und NA (Chen & Reith 1994; Florin et al., 1994; Thomas et al., 1994) gefunden. Eine Kokain-Dosis, die zu einer Steigerung der lokomotorischen Aktivität führt (bei der Ratte: etwa 10-15 mg/kg, i.p.), erhöht dabei die extrazelluläre Konzentration von DA, 5-HT und NA deutlich stärker als ein natürlicher Stimulus, wie z.B. Nahrung, oder spontane lokomotorische Aktivität (Rueter & Jacobs, 1996; Rueter et al., 1997; Salamone et al., 1997). Eine derartig starke Aktivierung der drei monoaminergen Transmittersysteme hat nicht nur akute Verhaltenseffekte zur Folge,

sondern ist auch für die Induzierung von zellulärer Plastizität mitverantwortlich, von der angenommen wird, dass sie die physiologische Grundlage für die Entwicklung von Kokainsucht darstellt (Nestler & Aghajanian, 1997; Koob et al., 1998; Berke & Hyman, 2000; Ungless et al., 2001).

Neben der Aktivierung des DA-, 5-HT- und NA-Systems wurde auch ein Anstieg der extrazellulären Konzentration anderer Neurotransmitter, wie Acetylcholin (ACh; Imperato et al., 1993; 1996; Consolo et al., 1999), Glutamat (Kalivas & Duffy, 1995; Smith et al., 1995; Reid et al., 1997), Aspartat (Smith et al., 1995), Endorphin (Olive et al., 2001) Histamin (Ito et al., 1997) und Cholecystokinin (Beinfeld et al., 2002) nach Kokain-Applikation berichtet. Auch bei diesen Neurotransmittern ist nach einem Anstieg der extrazellulären Transmitterkonzentration von einer erhöhten Aktivierung der jeweiligen Rezeptoren auszugehen. Insbesondere ein Anstieg der Aktivität exzitatorischer Aminosäuretransmitter ist dabei für Kokain-induzierte neuronale Plastizität (Pulvirenti & Diana, 2000) und die Akut- und Langzeiteffekte von Kokain (Karler & Calder, 1992; Kalivas et al., 1993; Wolf, 1998) von großer Bedeutung. Der bislang einzige bekannte Transmitter, dessen extrazelluläre Konzentration nach akuter Kokain Applikation sinkt, ist γ -amino-Buttersäure (GABA; Kalivas & Duffy, 1995; Parsons et al., 1999). Die Effekte von Kokain auf die Transmittersysteme, von denen bisher keine direkte Interaktion mit Kokain bekannt ist, sind möglicherweise sekundäre Effekte, die durch eine erhöhte DA-, 5-HT- oder NA-Konzentration bedingt sind (Nilsson et al., 1992; Cameron & Williams, 1994; Izumi et al., 1994; Gulyas et al., 1999; Zangen et al., 1999).

1.1.5 Langzeiteffekte von Kokain

Aufgrund des Fokus dieser Arbeit sollen die Langzeiteffekte von Kokain hier nur überblicksartig dargestellt werden. Für eine ausführliche Darstellung wird an dieser Stelle auf die Übersichtsarbeiten von Johanson & Fischman (1989), Woolverton & Johnson (1992) und Johanson & Schuster (1995) verwiesen. Die Verhaltenseffekte von Kokain können in akute und in Langzeiteffekte unterteilt werden. Akute Effekte sind, in Abhängigkeit von der verwendeten Dosis, bereits nach einmaliger Gabe zu beobachten. Langzeiteffekte treten erst nach mehrmaliger Applikation auf (Tzschentke, 1998; McBride et al., 1999). Verschiedene Effekte von Kokain werden zudem beim Menschen bereits nach einmaliger Gabe berichtet (Resnick et al., 1977;

van Dyke et al., 1976; 1978; Javaid et al., 1978), sind aber im Tierexperiment anhand eines veränderten Verhaltens erst nach mehrfacher Applikation zu beobachten. Dazu gehören die Verstärkereffekte und die Effekte auf das subjektive Empfinden. Zu den Langzeiteffekten von Kokain gehören auch dessen Eigenschaften als diskriminativer Stimulus, die sowohl beim Menschen als auch im Tierexperiment erst nach wiederholter Applikation nachweisbar sind (Olivieto et al., 1995; Walsh & Cunningham, 1997; Epstein et al., 1999). Die Langzeiteffekte von Kokain umfassen aber auch die veränderte Ausprägung der akuten Verhaltenseffekte und der akuten subjektiven Effekte, bedingt durch die Entwicklung von Toleranz und Sensitivierung (Johanson & Fischman, 1989; Johanson & Schuster, 1995). So unterliegt zum Beispiel die akute Hyperlokomotion einer Sensitivierung, d.h. die gleiche Dosis Kokain induziert eine immer stärkere Hyperlokomotion, die auch mit dem Auftreten von Stereotypen verbunden sein kann (Tatum & Severs, 1929; Downs & Eddy, 1932). Dagegen unterliegen die subjektiven Effekte von Kokain der Entwicklung von Toleranz, was bei bestimmten Einnahmemustern, wie dem „Binge-Taking“, zu einer Steigerung der Dosis führt, um vergleichbare Effekte zu erreichen wie nach der ersten Einnahme (Gawin, 1991).

1.2 Das serotonerge System des Gehirns

Serotonerge Zellen und 5-HT-Projektionen im ZNS findet man bereits bei entwicklungsgeschichtlich niederen Arten. Sie gelten als hochgradig konserviert von den einfachsten bis hin zu den komplexesten Vertebraten. Man nimmt deshalb an, dass die Funktion des 5-HT-Systems bei Fischen, Amphibien, Reptilien und Säugetieren ebenfalls ähnlich ist (Parent et al., 1984). Serotonin beeinflusst die Aktivität einer Vielzahl physiologischer Systeme. Dazu gehören das kardiovaskuläre System, die Atmung, die Thermoregulation und auch eine Vielzahl von Verhaltensprozessen (Lucki, 1998).

1.2.1 Serotonerge Neurone und Kerngebiete

Eine detaillierte Darstellung der Anatomie serotonerger Neurone und des serotonergen Systems im ZNS findet man bei Jacobs & Azmitia (1992), Halliday et al., (1995), Feldman et al. (1997), Baumgarten & Grozdanovic (1999) und Jacobs & Fornal (1999). Bis auf wenige Ausnahmen befinden sich die Zellkörper serotonerger

Neurone im Hirnstamm. Obwohl serotonerge Zellen nur in relativ kleinen Gruppen innerhalb des Hirnstamms vorkommen, innervieren sie fast das gesamte Gehirn und Rückenmark. In Vertebraten ist die Mehrheit der 5-HT Neurone innerhalb oder in der Nähe der Raphe´ Nuclei lokalisiert, die eines der komplexesten anatomisch-neurochemischen Systeme im Säugetierhirn darstellen. Dahlström & Fuxe (1964) beschrieben neun verschiedene Zellgruppen (B1-B9). Die Kerngebiete im Hirnstamm, denen sich diese Neuronengruppen zuordnen lassen, können prinzipiell in zwei Gruppen unterteilt werden. Die superiore Gruppe, die in der Pons und im Mesencephalon lokalisiert ist und den Nucleus caudalis linearis (NCL; B8), den Nucleus raphe´ medianus (MRN; B5 und B8), den Nucleus pontis oralis (NPO; B9) und den Nucleus raphe´ dorsalis (DRN; B6-B7) umfasst, innerviert den größten Teil des Vorderhirns. Die inferiore Gruppe (B1-B4), die auch als das caudale 5-HT-System bezeichnet wird, ist in der Medulla oblongata lokalisiert und innerviert unter anderem das Rückenmark. Sie umfasst den Nucleus raphe´ magnus (NRM; B3), den Nucleus raphe´ obscurus (NRO; B2 und B4) und den Nucleus raphe´ pallidus (NRP; B1). Schätzungen gehen dabei von etwa 20.500 serotonergen Neuronen bei der Ratte aus, wobei die höchste Dichte im DRN berichtet wurde. Innerhalb der verschiedenen Raphe´ Nuclei befinden sich jedoch nicht ausschließlich serotonerge Neurone, sondern z.B. auch GABAerge Neurone (Lee et al., 1987). Im DRN, dem Kerngebiet mit der höchsten 5-HT-Dichte, sind etwa zwei Drittel der Neurone serotonerg. In den meisten anderen Raphe´ Nuclei überwiegen nicht serotonerge Zellen. Läsionsstudien haben gezeigt, dass fast alle Neurone in den Raphe´ Nuclei, die mit langen Axonen ins Vorderhirn projizieren, 5-HT-Neurone sind.

1.2.2 Afferenzen serotonerger Neurone

Der häufigste Ursprung für Afferenzen eines bestimmten Raphe´ Nucleus sind die anderen Raphe´ Nuclei. Alle anderen Afferenzen können anhand ihrer Transmitter und anatomischen Ursprungsorte klassifiziert werden. So erhalten die Raphe´ Nuclei cholinerge Afferenzen vom Nucleus vestibularis superior, adrenerge Afferenzen aus der dorsalen Medulla, noradrenerge Afferenzen aus dem Locus coeruleus (LC), dopaminerge Afferenzen aus der Substantia nigra (SN) und neuropeptiderge Afferenzen aus dem periaqueductalen Grau. Weiterhin erhält der DRN neuropeptiderge und histaminerge Projektionen aus verschiedenen

hypothalamischen Kernen. Eine wichtige Projektion, die den MRN und DRN reziprok mit dem limbischen Vorderhirn verbindet, kommt aus der lateralen Habenula und benutzt Glutamat als Transmitter. Diese Projektionen enden nicht alle auf serotonergen Neuronen, sondern auch auf den GABAergen Interneuronen im DRN und MRN, wodurch eine Feed-forward Hemmung serotonerger Neurone möglich ist (Nishikawa & Scatton, 1984; Kalen et al., 1985). Über die Projektionen aus der lateralen Habenula erhalten serotonerge Neurone Informationen über die Aktivität motorischer und limbischer Areale.

1.2.3 Efferenzen serotonerger Neurone

Serotonerge Axone haben einen Durchmesser von 0.15-1.5 μm und sind unmyelinisiert. Von den serotonergen Kerngebieten im Hirnstamm ziehen dichte Projektionen nach rostral und caudal. Das absteigende 5-HT-System, das von den inferioren Kernen NRO, NRM und NRP (B1-B4) ausgeht, innerviert das Rückenmark. Projektionen ziehen im dorsolateralen Faszikulus vom NRM zur Lamina I und II der grauen Substanz des Dorsalhorns. Andere Projektionen vom NRP und NRO ziehen zu den Motorneuronen des Ventralhorns. Zudem innervieren serotonerge Neurone der ventrolateralen Medulla präganglionäre Zellen des sympathischen Nervensystems im thorakalen Rückenmark (Törk, 1985). Über diese Projektionen hat das 5-HT-System Einfluss auf sensorische, motorische und autonome Funktionen.

Das aufsteigende serotonerge System geht von den superioren Kernen DRN, MRN und NCL (B5-B9) aus. Dabei haben etwa 80% der serotonergen Innervierung des Vorderhirns ihren Ursprung im DRN oder MRN. Die aufsteigenden Bahnen lassen sich in ventrale und dorsale Projektionen unterteilen. Die ventralen Projektionen ziehen vom DRN und MRN zum größten Teil innerhalb des medialen Vorderhirnbündels (MFB) zum Diencephalon, den Basalganglien, zum limbischen System und in den Kortex. Zudem senden DRN und MRN Projektionen zu Kerngebieten im Mesencephalon, wie der SN, dem ventralen tegmentalen Areal (VTA) und dem Nucleus interpedunkularis. Die diencephalen Projektionen terminieren in der Habenula, in verschiedenen thalamischen Nuclei, den Mammilarkörpern, in verschiedenen hypothalamischen Kerngebieten und im preoptischen Areal. Serotonerge Projektionen zu den Basalganglien innervieren das Caudate-Putamen. Von besonderem Interesse sind die Projektionen ins limbische

System, die den Nac, die Amygdala, den Hippocampus, das Septum und olfaktorische Strukturen innervieren. Weiterhin wird der gesamte Neokortex serotonerg innerviert. Innerhalb der dorsalen aufsteigenden Projektionen ziehen Fasern zum mesencephalen Grau und zum Colliculus inferior und superior. Daneben gibt es noch zwei weitere serotonerge Projektionssysteme, die einerseits das Cerebellum und andererseits verschiedene Strukturen in der Pons und in der Medulla, wie den LC und verschiedene Kerne der Kranialnerven, innervieren.

1.2.4 Mikrostruktur und Volumentransmission im serotonergen System

Ein großer Teil der serotonergen Projektionen bildet keinen synaptischen Kontakt mit den Zielzellen, so wie es bei der klassischen chemischen Synapse angenommen wird (engl.: wired transmission). Eine Reihe von Untersuchungen hat belegt, dass das 5-HT-System zum Teil mittels parakriner bzw. Volumentransmission arbeitet (Agnati et al., 1995; Descarries & Umbriaco, 1995). Dabei wird der größte Teil des Transmitters an Varikositäten innerhalb des Zielgebietes serotonerger Projektionen ausgeschüttet, in deren Nähe keine postsynaptische Spezialisierung nachgewiesen werden konnte. Varikositäten (Schwellungen) sind Axonspezialisierungen, die Vesikel zur Speicherung und Ausschüttung von 5-HT enthalten, und die sich weit von einer serotonergen Synapse entfernt befinden können. Serotonin, das an solchen Varikositäten in einem bestimmten Areal ausgeschüttet wird, diffundiert durch den Extrazellulärraum und kann so auch an 5-HT-Rezeptoren binden, die relativ weit vom Ausschüttungsort entfernt sind (Bunin & Wightman, 1999). Durch schnelle Diffusion kann eine große Anzahl von Zielzellen erreicht werden, die so das gleiche serotonerge Signal erhalten.

Innerhalb des Vorderhirns konnte man zwei verschiedene Typen serotonerger Axone nachweisen. Am häufigsten fand man dünne und weit verzweigte Axone mit spindelförmigen Varikositäten. Synaptische Kontakte innerhalb dieses Systems gelten als nicht gesichert. Der zweite Typ ist durch dicke Axone mit wenigen oder keinen Varikositäten gekennzeichnet, die erst in den Terminalarealen verzweigen und dort große ovale Varikositäten formen. Beide Fasertypen haben ihren Ursprung in unterschiedlichen serotonergen Nuclei. Das sogenannte „D-System“ hat seinen Ursprung im DRN und bildet dünne Axone. Das sogenannte „M-System“ hat seinen Ursprung im MRN und bildet dicke Axone. Striatale Areale werden hauptsächlich von

D-Fasern, der Hippocampus hauptsächlich von M-Fasern innerviert, wobei es aber auch zu Überlappungen beider Fasersysteme kommt.

1.2.5 Die Aktivität serotonerger Neurone

Serotonerge Zellen sind durch eine geringe, aber konstante Spontanaktivität von 0.5-2.5 Spikes/Sekunde gekennzeichnet. Die Aktivität der 5-HT-Neurone wird intrinsisch durch ein oszillierendes Membranpotential generiert (Van der Maelen & Aghajanian, 1983). Sie variiert jedoch mit dem Verhaltensstatus des Organismus. Die Zellen feuern am stärksten bei aktiver Wachheit mit Lokomotion, weniger stark bei Wachheit ohne Lokomotion, deutlich weniger während des Tiefschlafes und fast überhaupt nicht während des paradoxen Schlafes (REM-Schlaf) (Jacobs & Fornal, 1999). Die neuronale Aktivität hängt dabei nicht direkt von der Hell-Dunkel-Phase des zirkadianen Rhythmus ab, sondern nur vom Verhaltensstatus des Organismus. Eine während der Aktivitätsphase (beim Menschen: tagsüber; bei der Ratte: nachts) erhöhte extrazelluläre 5-HT-Konzentration in Terminalgebieten serotonerger Projektionen ist damit nicht von Tageszeit und Helligkeit abhängig, sondern von der gezeigten Verhaltensaktivität (Jacobs, 1991). Serotonerge Neurone werden durch repetitive, von zentralen Muster-Generatoren mediierte Bewegungen, wie Laufen, Kauen oder Putzen, aktiviert, während der Orientierung auf einen starken sensorischen Stimulus jedoch gehemmt. Dabei wurde ein Anstieg der Feuerfrequenz meist einige Sekunden vor Initiierung der motorischen Aktivität beobachtet (Jacobs & Fornal, 1993, 1999). Komplementär dazu fanden Lipska et al. (1992), dass eine Entleerung neuronalen 5-HT's zu einer dauerhaften Reduktion der Spontanaktivität führt. Weitere Untersuchungen ergaben, dass akustischer Stress, Haltestress, Präsentation eines angstausslösenden Stimulus, Schmerz, ein Anstieg der Körpertemperatur, Hypo- oder Hypertension und Hypo- oder Hyperglycämie keinen signifikanten Einfluss auf die Feuerfrequenz serotonerger Neurone haben (Jacobs et al., 1990). In-vivo Mikrodialysestudien fanden allerdings, dass verschiedene Stressoren durchaus zu einem Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration in Terminalgebieten führen können (Kirby et al., 1997). Vanderwolf (1989) und Jacobs & Fornal (1993) schlugen als Funktion des 5-HT-Systems im ZNS die Erleichterung motorischer Aktivität bei gleichzeitiger Unterdrückung der sensorischen Verarbeitung vor. Über die Regulierung motorischer Aktivität hinaus beeinflusst 5-HT auch eine

Reihe von Verhalten, wie Fressverhalten (Bendoti & Samanin, 1986; Hoebel et al., 1989), Angst und Aggression (Iversen, 1984; McMillen et al., 1987; Griebel, 1995; Graeff et al., 1996; Schwarting et al., 1998), Lernen und Gedächtnis (Harvey, 1996; Bao et al., 1998; Bailey et al., 2000; Kandel, 2001), Verstärkung (Fletcher et al., 1999; Hasenöhrle et al., 2002), Fortpflanzungsverhalten (Hillegaart et al., 1989a) und Stress-induziertes Verhalten (Netto & Guimaraes, 1996; Guimaraes et al., 1993; Lucki, 1998).

1.2.6 Die serotonerge Synapse

Das Indolalkylamin Serotonin (3-(2-Aminoethyl)indol-5-ol = 5-Hydroxytryptamine) wird in zwei Schritten aus der Aminosäure Tryptophan synthetisiert. Die Synthese findet in den serotonergen Synapsen und Varikositäten statt. Im ersten, geschwindigkeitsbestimmenden Schritt wird Tryptophan zu 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) unter Beteiligung des Enzyms Tryptophan-Hydroxylase umgesetzt. Tryptophan-Hydroxylase wird nur in serotonergen Neuronen synthetisiert und entlang des Axons zu den Orten der 5-HT-Synthese transportiert. Pharmakologische Hemmung des Enzyms resultiert in einer verringerten 5-HT-Synthese und damit in einer 5-HT-Entleerung (Joh, 1999). Im Gehirn fand man nur kleine Mengen 5-HTP, da es schnell zu 5-HT decarboxyliert wird. Katalysiert wird diese Reaktion durch die aromatische L-Aminosäuren-Decarboxylase, die auch die Decarboxylierung von L-DOPA zu DA katalysiert. Die Syntheserate von 5-HT ist dabei abhängig von der Feuerfrequenz der serotonergen Neurone, die direkt mit der Tryptophan-Hydroxylase-Aktivität gekoppelt ist. Depolarisations-induzierte Tryptophan-Hydroxylase Aktivierung (Boadle-Biber et al., 1986) ist dabei Ca^{2+} -abhängig und beinhaltet die Phosphorylierung des Enzyms. Wenn die Feuerfrequenz reduziert ist, wird auch die 5-HT-Synthese gehemmt. Man nimmt an, dass die Inaktivierung von Tryptophan-Hydroxylase über eine Verringerung der Phosphorylierungsrate mediiert wird (für einen Überblick siehe: Feldman et al., 1997).

Frisch synthetisiertes 5-HT wird über einen vesikulären Membrantransporter in Vesikel verpackt (Peter et al., 1999). Man nimmt an, dass bei Ankunft eines Aktionspotentials der Inhalt der Vesikel mittels Na^{+} - und Ca^{2+} -abhängiger Exozytose in den Extrazellulärraum entleert wird. Nachdem 5-HT in den Extrazellulärraum ausgeschüttet wurde, diffundiert es und bindet an prä- und postsynaptische 5-HT-

Rezeptoren. Die Bindung an präsynaptische Autorezeptoren inhibiert dabei die weitere 5-HT-Ausschüttung (Blier et al., 1998; Göthert & Schlicker, 1999) und die 5-HT-Synthese (Hutson et al., 1989). Serotonerge Autorezeptoren können in somatodendritische und terminale Autorezeptoren unterteilt werden. Terminale Autorezeptoren, die zur Klasse der 5-HT_{1B}-Rezeptoren (beim Menschen: 5-HT_{1D}) gehören, befinden sich an der Präsynapse in den Terminalgebieten serotonerger Projektionen und regulieren dort die 5-HT-Ausschüttung und 5-HT-Synthese (Morikawa et al., 2000; Riad et al., 2000). Somatodendritische Autorezeptoren befinden sich am Soma und an proximalen Dendriten serotonerger Neurone. Sie gehören zur Klasse der 5-HT_{1A}-Rezeptoren (Gozlan et al., 1983; Riad et al., 2000). Die Aktivierung somatodendritischer 5-HT_{1A}-Rezeptoren führt zu einer Negativierung des Membranpotentials serotonerger Neurone (Hamon, 1999) und damit zu einer verringerten Feuerfrequenz (Sprouse & Aghajanian, 1987).

Ausgeschüttetes 5-HT wird größtenteils durch aktiven Transport aus dem Extrazellulärraum entfernt. Dies geschieht durch ein Transportprotein in der Zellmembran: den SERT (Snyder, 1970). Die Wiederaufnahme von 5-HT in die Präsynapse ist Na⁺-abhängig und erfordert, im Gegensatz zur passiven Diffusion, metabolische Energie. Die treibende Kraft für die 5-HT-Wiederaufnahme ist der elektrochemische Na⁺-Gradient zwischen Zytoplasma und Extrazellulärraum. Mit jedem 5-HT-Molekül wird auch ein Na⁺-Ion und für den Nettotransport auch ein Cl⁻-Ion mit in die Zelle aufgenommen. Über den Transport eines K⁺-Ions in den Extrazellulärraum wird dann die ursprüngliche Konformation des SERT wieder hergestellt. Der Na⁺-K⁺-Gradient, der für diesen Prozess notwendig ist, wird anschließend unter Energieverbrauch durch eine Na⁺-K⁺-Pumpe wieder hergestellt (Marcusson & Ross, 1990). Generell gehört der SERT zur Familie der Transporterproteine mit 12 Transmembrandomänen. Zu dieser Familie gehören u.a. auch der DAT und NAT (für eine Übersicht siehe: Lesch, 1999). Pharmakologische Blockade des SERT resultiert generell in einer verringerten 5-HT-Wiederaufnahme aus dem Extrazellulärraum und damit in einem Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration. Nachdem 5-HT wieder in die Präsynapse aufgenommen wurde, wird es durch oxidative Deaminierung in zwei Schritten zu 5-Hydroxyindol-Essigsäure (5-HIAA) metabolisiert. Diese Reaktion wird durch Monoaminoxidase (MAO) katalysiert. Das dabei entstandene 5-HIAA ist physiologisch inaktiv und diffundiert aus der Zelle heraus. Es gelangt in die Cerebrospinalflüssigkeit, von wo es über einen aktiven

Transportmechanismus ins Blut gelangt und aus dem ZNS abtransportiert wird. Im ZNS gilt 5-HIAA als Indikator der regionalen 5-HT-Syntheseaktivität, da ein Großteil überschüssig synthetisierten 5-HT's direkt von MAO zu 5-HIAA oxidiert wird (Wolf et al., 1985; Cumming et al., 1992).

1.2.7 Serotonerge Rezeptoren und ihre Funktion

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt sind 14 strukturell und pharmakologisch verschiedene 5-HT-Rezeptoren und ihre entsprechenden Gene beschrieben. Diese Rezeptoren lassen sich anhand der strukturellen Ähnlichkeit ihrer Aminosäure-Zusammensetzung in 7 Rezeptorfamilien (5-HT₁-5-HT₇) unterteilen. Bis auf den 5-HT₃-Rezeptor gehören alle 5-HT-Rezeptoren zur Familie der G-Protein gekoppelten metabotropen Rezeptoren mit 7 Transmembrandomänen. Über G-Proteine sind diese Rezeptoren an verschiedene „Second messenger“-Systeme gekoppelt. Der ionotrophe 5-HT₃-Rezeptor ist dagegen ein ligandenabhängiger Ionenkanal (Barnes & Sharp, 1999; Hartig, 1999).

1.2.7.1 Pharmakologie des Serotonin_{1A}-Rezeptors

Der 5-HT_{1A}-Rezeptor ist, bedingt durch die frühe Entwicklung eines selektiven Rezeptor-Agonisten (Arvidsson et al., 1981; Hjorth et al., 1982), einer der am längsten bekannten 5-HT-Rezeptoren (Gozlan et al., 1983). Er gehört zur Familie der 5-HT₁-Rezeptoren, die noch mindestens 4 weitere Rezeptor-Subtypen umfasst. Die Familie der 5-HT₁-Rezeptoren weist eine hohe Aminosäure-Sequenz Homologie zwischen den einzelnen Rezeptor-Subtypen auf. Alle 5-HT₁-Rezeptoren sind über ein G-Protein negativ an Adenylzyklase gekoppelt. In der Ratte besteht der 5-HT_{1A}-Rezeptor aus 422 Aminosäuren und weist damit eine 89%ige Homologie zum humanen 5-HT_{1A}-Rezeptor auf (Albert et al., 1990). Er verfügt über 7 hydrophobe Domänen, von denen man annimmt, dass sie den Transmembranregionen des Proteins entsprechen. Über G_i/G_o-Proteine ist der 5-HT_{1A}-Rezeptor negativ mit Adenylzyklase gekoppelt (Blier et al., 1993a), d.h. eine Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors bewirkt eine Inhibierung der Adenylzyklase-Aktivität (Hamon et al., 1990). Adenylzyklase ist ein in der Zellmembran lokalisiertes Enzym, das die Umsetzung von Adenosintriphosphat (ATP) zu zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP)

katalysiert. Zyklisches Adenosinmonophosphat fungiert als intrazellulärer Botenstoff (engl.: second messenger; Feldman et al., 1997). Gleichzeitig bewirkt eine 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung die Öffnung eines spezifischen K⁺-Kanals (Haj-Dahmane et al., 1991). Auf zellulärer Ebene führt die Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors zur Hyperpolarisation der Zellmembran.

Die Verteilung des 5-HT_{1A}-Rezeptors im ZNS ist sehr inhomogen. Es gibt Areale mit hoher 5-HT_{1A}-Rezeptor Dichte. Dazu zählen die Raphe´ Nuclei und limbische Hirnareale, wie der Hippocampus und das laterale Septum. Eine mittlere Dichte findet man im Nac, der Amygdala, im Hypothalamus und im Neokortex. Dagegen sind im Cerebellum, in der SN, im Globus pallidus und im Caudate-Putamen keine 5-HT_{1A}-Rezeptoren detektierbar (Verge et al., 1986; Palacios et al., 1990; Pompeiano et al., 1992). Die Verteilung von 5-HT_{1A}-Bindungsstellen im ZNS entspricht zudem der Verteilung der 5-HT_{1A}-Rezeptor mRNA (Pompeiano et al., 1992). Daraus hat man geschlussfolgert, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptor nach seiner Synthese nicht über lange Strecken transportiert wird bzw. dass er hauptsächlich im somatodendritischen Bereich eines Neurons lokalisiert ist (Hamon, 1999). Untersuchungen der mikrostrukturellen Lokalisierung haben gezeigt, dass 5-HT_{1A}-Rezeptoren im DRN und MRN am Soma und an proximalen Dendriten serotonerger Neurone lokalisiert sind (Riad et al., 2000), wo sie die Funktion eines inhibitorischen Autorezeptors haben (Gozlan et al., 1983; Blier & De Montigny, 1987; Stamford et al., 2000). Die selektive Stimulation der 5-HT_{1A}-Rezeptoren im DRN verringert die Feuerfrequenz serotonerger Neurone (Hjorth et al., 1982; Sprouse & Aghajanian, 1988), die 5-HT-Synthese (Hjorth & Magnusson, 1988; Meller et al., 1990; Invernizzi et al., 1991; Johnson et al., 1996) und die 5-HT-Ausschüttung in den Terminalgebieten serotonerger Projektionen (Sharp & Hjorth, 1990; Bonvento et al., 1992; Kreiss & Lucki, 1994). In den Projektionsgebieten serotonerger Neurone sind 5-HT_{1A}-Rezeptoren postsynaptisch (Riad et al., 2000; Doherty & Pickel, 2001) oder als Heterorezeptoren an den Terminalen von Projektionen anderer Transmittersysteme (Quiron & Richard, 1987) lokalisiert. Die Stimulation postsynaptischer 5-HT_{1A}-Rezeptoren in serotonergen Terminalgebieten hat unter Basalbedingungen keinen Effekt auf die extrazelluläre 5-HT-Konzentration in diesen Gebieten (Kreiss and Lucki, 1994). Man nimmt an, dass sowohl somatodendritische als auch postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren tonisch aktiviert werden und dass diese tonische

Aktivierung für die neuronale Plastizität in diesen Hirnarealen erforderlich ist (Azmitia & Whitaker-Azmitia, 1999; Blier et al., 2001).

1.2.7.2 Der Serotonin_{1A}-Rezeptor und Verhalten

Die Beteiligung des 5-HT_{1A}-Rezeptors an Verhalten wurde in vielen Studien untersucht. Durch seine Funktion als somatodendritischer Autorezeptor beeinflusst er wahrscheinlich alle Verhaltensweisen, die mit einer veränderten Aktivität serotonerger Neurone einhergehen. Ein prominenter Verhaltenseffekt, der durch den 5-HT_{1A}-Rezeptor mediiert wird, ist das sogenannte „Serotonin-Syndrom“ (Jacobs & Klemfuss, 1975). Es kann ausgelöst werden durch eine serotonerge Überstimulierung des ZNS und besteht bei der Ratte aus Hyperlokomotion, Abspreizen und Rigidität der hinteren Gliedmaßen, Forderpfotenbewegungen, seitlichem Kopfwenden, einem Ruhetremor und einem aufgestellt-gebogenem Schwanz (engl: Straub tail) (Jacobs, 1976). Verschiedene Untersuchungen ergaben, dass die meisten Verhaltensformen des „Serotonin-Syndroms“ durch Überstimulierung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors, der eine hohe Sensitivität für 5-HT besitzt, ausgelöst werden können (Tricklebank et al., 1984; Lucki & Wieland, 1990; Sanchez et al., 1996). Es gilt als gesichert, dass bereits eine moderate Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors Lokomotion beeinflusst, ohne Anzeichen eines „Serotonin-Syndroms“ zu bewirken. Dennoch gibt es kontroverse Befunde, die einerseits eine erhöhte lokomotorische Aktivität nach 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung (Tricklebank et al., 1984; Dourish et al., 1985; Lucki et al., 1989) und andererseits eine verringerte lokomotorische Aktivität gefunden haben (Carli et al., 1989; Hillegaart et al., 1989b; Mittman & Geyer, 1989). Generell wurden inhibitorische Effekte eher in großflächigen, und daher Angst-induzierenden Testarenen (Carli et al., 1989) und mit unhabituierten Tieren gefunden, was auf eine Interaktion mit Angst-Prozessen hinweist. Stimulierende Effekte auf die Lokomotion wurden dagegen eher in kleinen Testarenen mit habituierten Tieren beobachtet (Evdenden & Ångeby-Möller, 1990). Die Beteiligung des 5-HT_{1A}-Rezeptors an Angst gilt als sicher erwiesen (Fletcher et al., 1993; Griebel, 1995). Verschiedene 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten (Collinson & Dawson, 1997; Barros et al., 2001), aber auch 5-HT_{1A}-Rezeptor-Antagonisten zeigen ein anxiolytisches Profil (Moreau et al., 1992; Fletcher et al., 1996; Cao & Rogers, 1997a, 1997b, 1998a, 1998b; Griebel et al., 1999, 2000;

Barros et al., eingereicht). Allerdings gibt es auch gegenteilige Befunde (Charrier et al., 1994, Bickerdike et al., 1995; Stanhope & Dourish, 1996; Maurel Remy et al., 1996; Collinson & Dawson, 1997; Millan et al., 1997). Die gentechnische Generierung von Mäusen ohne funktionalen 5-HT_{1A}-Rezeptor (5-HT_{1A}-Rezeptor knock out) bestätigte konsistent die pharmakologischen Studien, die eine primär anxiolytische und Lokomotion stimulierende Wirkung des 5-HT_{1A}-Rezeptors beobachteten (Heisler et al., 1998; Parks et al., 1998; Ramboz et al., 1998; Sibille et al., 2000). Sowohl pharmakologische, als auch Studien mit knock out Mäusen, untersuchten nur die Effekte einer summatorischen Stimulation/Hemmung der Population aller 5-HT_{1A}-Rezeptoren im ZNS. Studien mit lokaler 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonist/Antagonist Applikation haben dagegen gezeigt, dass sowohl die lokomotorischen als auch die anxiolytischen Effekte davon abhängen, ob prä- oder postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren stimuliert/gehemmt werden (Hillegaart & Hjorth, 1989; Higgins & Elliot, 1991; Andrews et al., 1994; File et al., 1996). Zudem sind auch innerhalb der Population der präsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren dissoziierende Verhaltenseffekte zwischen DRN und MRN beschrieben worden (Elliot et al., 1990). Neben einer Beteiligung an Lokomotion und Angst, wird der 5-HT_{1A}-Rezeptor auch mit einer Stimulierung des Fressverhaltens (Dourish et al., 1985; Lucki & Wieland, 1990) und einer Inhibierung von Putzverhalten in Verbindung gebracht (Carey et al., 2000).

Eine wichtige Rolle spielt der 5-HT_{1A}-Rezeptor auch bei Verstärkungsprozessen und bei Lernen und Gedächtnis. Die Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors mit dem 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten 8-OH-DPAT (Arvidsson et al., 1981; Hjorth et al., 1982) wirkt als diskriminativer Stimulus (Schreiber & De Vry, 1993; Schreiber et al., 1995) und kann in geringer bis mittlerer, nicht jedoch in hoher Dosierung konditionierte Platzpräferenz (CPP) induzieren (Papp & Willner, 1991; Shippenberg, 1991). Für 5-HT_{1A}-Rezeptor induzierte CPP sind wahrscheinlich 5-HT_{1A}-Autorezeptoren im DRN oder MRN verantwortlich (Fletcher et al., 1993). Eine inhibitorische Rolle wurde für den 5-HT_{1A}-Rezeptor bei verschiedenen Lernparadigmen gezeigt. So führt 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung zu einem Defizit beim passiven Vermeidungslernen (Misane et al., 1998) und bei räumlichen Lernaufgaben (Bertrand et al., 2000). Es konnte zudem gezeigt werden, dass die pharmakologische Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors zu beeinträchtigter räumlicher Navigation und Diskrimination führt (Carli & Samanin, 1992), woran insbesondere 5-HT_{1A}-Rezeptoren im dorsalen Hippocampus beteiligt

sind (Carli et al., 1992). Keinen Effekt hatte die systemische Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors in einer nicht-räumlichen, visuellen Diskriminationsaufgabe (Carli et al., 1995a). Im Gegensatz zur Stimulierung, hatte die pharmakologische Blockade hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren keinen Effekt auf räumliches Diskriminationslernen. Defizite im räumlichen Diskriminationslernen, induziert durch die intra-hippocampale Gabe von Scopolamin, können dagegen durch vorausgehende pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors im dorsalen Hippocampus aufgehoben werden (Carli et al., 1995b). Insbesondere hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptoren wurden auch mit der Inhibierung der Gedächtniskonsolidierung bei Stress-assoziierten Gedächtnisinhalten in Verbindung gebracht (Guimaraes et al. 1993; Netto & Guimaraes, 1996). Die post-Training 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung nach einer instrumentellen Konditionierungsaufgabe kann jedoch auch zu einer verbesserten Konsolidierung führen (Meneses & Hong, 1999). Allerdings wird durch 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung auch die Abschwächung nicht mehr verstärkten Verhaltens gehemmt (Fletcher, 1993), was möglicherweise durch eine 5-HT_{1A}-Rezeptor induzierte Abschwächung der spontanen Alternierung im Verhalten bewirkt wird (Yadin et al., 1991; Seibell et al., 2003).

1.2.7.3 Andere Serotonin-Rezeptoren

Alle anderen 5-HT-Rezeptoren sollen hier nur übersichtsartig beschrieben werden. Soweit nicht anders angegeben, wurden die Informationen aus Barnes & Sharp (1999) und Hartig (1999) entnommen.

Zur Familie der 5-HT₁-Rezeptoren gehören neben dem 5-HT_{1A}-Rezeptor auch noch der 5-HT_{1B}-, 5-HT_{1D}-, 5-HT_{1E}- und der 5-HT_{1F}-Rezeptor. Der 5-HT_{1B}-Rezeptor wurde bisher bei der Ratte, der Maus und beim Hamster, nicht jedoch beim Menschen und den meisten anderen Säugetieren nachgewiesen. Ihm entspricht beim Menschen der homologe 5-HT_{1D}-Rezeptor (Göthert et al., 1996). Serotonin_{1B}- und 5-HT_{1D}-Rezeptoren fand man in hoher Dichte in den Basalganglien und im limbischen System. Man geht davon aus, dass 5-HT_{1B}- und 5-HT_{1D}-Rezeptoren präsynaptische Autorezeptoren an serotonergen Terminalen und Heterorezeptoren an nicht-serotonergen Terminalen sind (Riad et al., 2000), die die 5-HT-Ausschüttung und die Ausschüttung anderer Transmitter regulieren (Boulenguez et al., 1996; Göthert & Schlicker, 1999). Pharmakologische Aktivierung des 5-HT_{1B}-Rezeptors führt neben

einer Inhibierung der 5-HT-Ausschüttung (Briley et al., 1999) zu einem Anstieg der Lokomotion, zu Hypophagie und zu Hyperthermie. Darüber hinaus ist der 5-HT_{1B}-Rezeptor an der Mediation aggressiven Verhaltens beteiligt. Die physiologische- und Verhaltensfunktion des 5-HT_{1D}-Rezeptors ist bisher noch unklar. Das trifft auch auf die bisher nur wenig erforschten 5-HT_{1E}- und 5-HT_{1F}- Rezeptoren zu.

Zur Familie der 5-HT₂-Rezeptoren gehören der 5-HT_{2A}-, der 5-HT_{2B}- und der 5-HT_{2C}-Rezeptor. Alle drei Rezeptor-Subtypen weisen eine hohe Ähnlichkeit in der molekularen Struktur, der Pharmakologie und in den Signaltransduktionskaskaden auf (Roth & Hyde, 1999). Serotonin₂-Rezeptoren verfügen über 7 Transmembrandomänen. Sie sind über ein G-Protein positiv an Phospholipase C gekoppelt, stimulieren die intrazelluläre Phosphatidyl-Inositid Hydrolyse, verringern die K⁺-Leitfähigkeit und aktivieren intrazelluläres Ca²⁺ (Aghajanian & Andrade, 1999). Die Aktivierung von 5-HT₂-Rezeptoren wirkt damit exzitatorisch. Generell besitzen 5-HT₂-Rezeptoren eine relativ geringe Affinität für 5-HT. Serotonin₂-Rezeptoren sind postsynaptisch lokalisiert, wobei sich die Lokalisation der drei Rezeptor-Subtypen voneinander unterscheidet. Selektive Stimulierung des 5-HT_{2C}-Rezeptors führt zu Hyperlokomotion, Hyperphagie und Anxiogenese. Obwohl die Aktivierung des 5-HT_{2A}-Rezeptors diskriminative Stimuluseigenschaften besitzt und Hyperthermie auslöst, sind keine Effekte auf Spontanverhalten bekannt, was auch auf den 5-HT_{2B}-Rezeptor zutrifft.

Der 5-HT₃-Rezeptor ist der bisher einzige bekannte 5-HT-Rezeptor, der zur Klasse der ligandenabhängigen Ionenkanäle zählt, zu der auch nikotinerge und GABA_A-Rezeptoren gehören. Er ist der einzige Monoamin-Rezeptor im ZNS, der mit schneller synaptischer Transmission assoziiert wird. Fünf Transmembrandomänen umfassen dabei einen Ionenkanal, der geöffnet für monovalente Kationen durchlässig ist, und damit eine postsynaptische Depolarisation bewirkt (Aghajanian & Andrade, 1999). Die höchste Rezeptordichte findet man im Hirnstamm. Eine geringere Rezeptorexpression wurde im Hippocampus, der Amygdala und im cerebralen Kortex beobachtet. Der 5-HT₃-Rezeptor wird mit einer ganzen Reihe sensorischer und verhaltensrelevanter Funktionen, wie Nocizeption, Lokomotion, Angst, Belohnung und kognitiven Leistungen, in Verbindung gebracht (Jones et al., 1988; Costall & Naylor, 1999; van Hooft & Vijverberg, 2000).

Der 5-HT₄-Rezeptor wurde im ZNS in relativ hoher Dichte innerhalb des limbischen Systems nachgewiesen. Man nimmt an, dass der 5-HT₄-Rezeptor dabei eine

wichtige Komponente in verschiedenen Projektionswegen, wie z.B. in der hippocampo-habenulo-interpedukulären oder der striato-nigralen Bahn, darstellt. Die Lokalisation innerhalb von Feedback-Schleifen zu den Raphe´ Nuclei erklärt möglicherweise, warum die Stimulierung des postsynaptischen 5-HT₄-Rezeptors zu einem Anstieg der 5-HT-Konzentration in Terminalgebieten, wie dem Hippocampus (Ge & Barnes, 1995), führt. Der 5-HT₄-Rezeptor verfügt über 7 Transmembrandomänen und ist über ein G-Protein positiv an Adenylzyklase gekoppelt. Die Verbindung mit anderen „Second messenger“-Systemen wird derzeit noch diskutiert. Eine Stimulierung des 5-HT₄-Rezeptors führt zu einer langsamen Membrandepolarisation und erhöht damit die Erregbarkeit der Membran (Aghajanian & Andrade, 1999). Obwohl verschiedene „Splice“-Varianten des 5-HT₄-Rezeptors nachgewiesen wurden, sind pharmakologisch bisher keine Rezeptor-Subtypen unterscheidbar. Die Stimulierung des 5-HT₄-Rezeptors führt nicht zu verändertem Spontanverhalten, kann aber die kognitive Leistungsfähigkeit verbessern. Ob 5-HT₄-Rezeptor Stimulierung anxiogen wirkt, wird dagegen noch kontrovers diskutiert (Kilpatrick et al., 1996; Bockaert et al., 1999).

Die 5-HT₅-, 5-HT₆- und 5-HT₇-Rezeptoren sind bisher noch relativ wenig erforscht. Alle drei Rezeptor-Familien kommen im ZNS vor und gehören zur Klasse der G Protein gekoppelten Rezeptoren. Die Aktivierung des 5-HT₅-Rezeptors hatte in bisherigen Experimenten keinen Einfluss auf die Bildung der „Second messenger“ cAMP und Inositol-Phosphat. Von 5-HT₆- und 5-HT₇-Rezeptoren ist bekannt, dass sie positiv mit Adenylzyklase gekoppelt sind, d.h. ihre Stimulierung erhöht die Bildung von cAMP (Aghajanian & Andrade, 1999). Über die Verhaltenseffekte von 5-HT₅-, 5-HT₆- und 5-HT₇-Rezeptoren ist bisher wenig bekannt. Die hohe Affinität atypischer Neuroleptika zum 5-HT₆- und 5-HT₇-Rezeptor legt jedoch eine Beteiligung an emotionalen Prozessen nahe (Branchek & Zgombick, 1999).

1.2.8 Das serotonerge System und Kokain

Das serotonerge System wird mit einer Vielzahl der akuten und chronischen neurochemischen- und Verhaltenseffekte von Kokain in Verbindung gebracht. Aufgrund des Fokuses dieser Arbeit soll hier nur die Beteiligung des serotonergen Systems an den Akuteffekten ausführlich diskutiert werden. Die Beteiligung des

serotonergen Systems an den Langzeiteffekten von Kokain wird dagegen nur überblicksartig dargestellt .

1.2.8.1 Serotonin und die akuten Verhaltenseffekte von Kokain

Um die Rolle des serotonergen Systems bei den akuten Verhaltenseffekten von Kokain zu untersuchen, wurden verschiedene Stimulations- und Inhibitionstechniken eingesetzt. Man kann dabei unterscheiden zwischen Behandlungen, die die serotonerge Transmission im ZNS global erhöhen oder verringern und Behandlungen mit serotonergen Rezeptor Agonisten/Antagonisten, die speziell die Rolle einzelner 5-HT-Rezeptoren untersuchen. Neuere Ansätze versuchen zudem, über die Manipulation bestimmter Gene, Komponenten des serotonergen Systems auszuschalten (knock out) oder besonders zu aktivieren (Überexprimierer), womit z.B. die Beteiligung des 5-HT-Systems an den Verstärkereffekten von Kokain demonstriert werden konnte. So konnte gezeigt werden, dass DAT knock out Mäuse, die keinen DAT mehr exprimieren, immer noch Kokain-induzierte Platzpräferenz und auch Kokain-Selbstverabreichungsverhalten zeigen (Rocha et al., 1998; Sora et al., 2001). Erst wenn zusätzlich zum DAT auch noch der SERT ausgeschaltet ist (DAT/SERT doppel knock out), war keine Kokain-induzierte Platzpräferenz mehr zu beobachten (Sora et al., 2001).

Frühere Untersuchungen zur Rolle des 5-HT-Systems bei den akuten Verhaltenseffekten von Kokain benutzten den 5-HT-Synthese Blocker p-Chlorphenylalanin (p-CPA; Koe & Weissman, 1966), um die Verfügbarkeit von 5-HT im ZNS zu verringern. Verschiedene Autoren fanden dabei eine Potenzierung Kokain-induzierter Hyperlokomotion und Kokain-induzierten Aufrichtverhaltens bei der Ratte (Scheel-Krüger et al., 1977; Svingos & Hitzemann, 1992; Herges & Taylor, 1999a). Auch die neurotoxische Läsion serotonerger Neurone mittels 5,7-Dihydroxytryptamine (5,7-DHT) führte zu einer Potenzierung der Kokain-induzierten Hyperlokomotion (Morrow & Roth, 1996). Eine L-Tryptophan freie Diät, die ebenfalls eine Verringerung der 5-HT-Verfügbarkeit im ZNS bewirken soll, führte dagegen beim Menschen zu einer Verringerung der akuten Euphorie-Effekte von Kokain (Aronson et al., 1995) und in der Folge zu einer Verringerung von „Kokain-Craving“ (Satel et al., 1995). Komplementär zu den Untersuchungen mit p-CPA und 5,7-DHT fanden andere Studien, die mittels der Verabreichung von 5-HT-Vorstufen, wie L-

Tryptophan und 5-HTP, eine vermehrte Verfügbarkeit von 5-HT im ZNS induzierten, eine Verringerung Kokain-induzierter Hyperlokomotion (Pradhan et al., 1978; Molina et al., 2001). Die extrazelluläre 5-HT-Konzentration im ZNS kann durch die Verabreichung selektiver 5-HT-Wiederaufnahmehemmer (SSRI) kurzfristig erhöht werden (Hjorth & Auerbach, 1996; Hervas & Artigas, 1998; Hervas et al., 2000). Die Gabe eines SSRI hatte dabei entweder keinen (Reith et al., 1991) oder einen potenzierenden Effekt auf Kokain-induzierte Hyperlokomotion (Herges & Taylor, 1998). Dagegen reduzierte die Vorbehandlung mit dem SSRI Fluoxetine die akuten subjektiven Effekte von Kokain beim Menschen (Walsh et al., 1994). Die Mehrzahl der angeführten Studien belegt eine global inhibitorische Rolle von 5-HT bei Kokain-induzierter Hyperaktivität im Tiermodell. Obwohl es Hinweise auf eine Beteiligung des serotonergen Systems an den akuten subjektiven Effekten von Kokain beim Menschen gibt, bedarf es erst noch weiterer Experimente, um klare Aussagen darüber machen zu können (siehe auch: Walsh & Cunningham, 1997). Inwieweit die Manipulationen des serotonergen Systems auch die Kokain-induzierte Unterdrückung von Putz- und Fressverhalten beeinflusst, ist bisher weder im Tiermodell noch am Menschen untersucht worden.

Eine Vielzahl von Studien untersuchte die Rolle einzelner 5-HT-Rezeptoren bei den akuten Verhaltenseffekten von Kokain. Derartige Studien sind jedoch in ihrer Aussagekraft immer durch die Verfügbarkeit und Selektivität der verwendeten 5-HT-Rezeptor Agonisten/Antagonisten limitiert. Die pharmakologische Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors führte in mehreren Studien zu einer Potenzierung Kokain-induzierter Hyperlokomotion (De La Garza & Cunningham, 2000; Carey et al., 2001, 2002). Lediglich eine Studie von Przegaliński & Filip (1997), die eine sehr kleine Dosis Kokain verwendete, fand eine Inhibierung. Parallel dazu berichten sowohl De La Garza & Cunningham (2000) als auch Carey et al. (2001, 2002) eine Inhibierung Kokain-induzierten Aufrichtverhaltens nach 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung. Carey et al. (2002) fanden zudem, dass 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung keinen Effekt auf die Kokain-induzierte Unterdrückung des Putzverhaltens hat. Die pharmakologische Inhibierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors führte entweder zu einer Verringerung Kokain-induzierter Hyperaktivität (King et al., 1993; Carey et al., 2000, 2001, 2002) oder hatte keinen Effekt darauf (Przegaliński & Filip 1997; Herges & Taylor, 1998). Die Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors hatte keinen Effekt auf die Kokain-induzierte Unterdrückung von Putzverhalten (Carey et al., 2001, 2002). Die Mehrzahl der

Befunde legt damit eine potenzierende Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei Kokain-induzierter Hyperlokomotion nahe. Das verringerte Aufrichtverhalten nach 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung könnte demnach durch eine Verhaltens-Kompetition zustande gekommen sein. Die Rolle der anderen 5-HT₁-Rezeptor Subtypen bei den Verhaltenseffekten von Kokain ist weniger gut untersucht. Lediglich Castanon et al. (2000) berichteten unter Verwendung des gemischten 5-HT_{1B/1D}-Rezeptor Antagonisten GR 127935 eine Inhibierung Kokain-induzierter Hyperaktivität.

Mehrere Studien mit den unspezifischen 5-HT₂-Rezeptor Antagonisten Ketanserin und Ritanserin weisen auf eine hauptsächlich potenzierende Rolle der 5-HT₂-Rezeptor Familie bei Kokain-induzierter Hyperaktivität hin (Herges & Taylor, 1998; O'Neil et al., 1999; McMahon & Cunningham, 2001). Diese Rolle wurde auch mit selektiven Antagonisten für den 5-HT_{2A}-Rezeptor (O'Neil et al., 1999; McMahon & Cunningham, 2001; Fletcher et al., 2002), jedoch nicht für den 5-HT_{2C}-Rezeptor (McCreary & Cunningham, 1999; Grottick et al., 2000; Fletcher et al., 2002) bestätigt. Der unspezifische 5-HT₂-Rezeptor Antagonist Ketanserin hatte allerdings keinen Effekt auf die Kokain-induzierte Hemmung des Fressverhaltens (Rapoza & Woolverton, 1991).

Verschiedene Studien mit 5-HT₃-Rezeptor Antagonisten fanden einen inhibitorischen (Reith, 1990; van der Hoek & Cooper, 1990; Svingos & Hitzemann, 1992; Kankaanpää et al., 2002) oder keinen Effekt (King et al., 1994; Le et al., 1997) auf Kokain-induzierte Hyperaktivität oder Kokain-induzierte Unterdrückung des Putzverhaltens (van der Hoek & Cooper, 1990). Zudem fanden vorläufige Studien am Menschen eine potenzierende Rolle des 5-HT₃-Rezeptors bei den akuten subjektiven Effekten von Kokain (für einen Überblick siehe: Walsh & Cunningham, 1997). Die meisten Studien unterstützen damit die Annahme einer potenzierenden Rolle des 5-HT₃-Rezeptors bei Kokain-induzierter Hyperaktivität und möglicherweise auch bei den akuten subjektiven Effekten von Kokain.

Auch der 5-HT₄-Rezeptor spielt möglicherweise eine potenzierende Rolle bei Kokain-induzierter Hyperaktivität (Ohuoha et al., 1998; McMahon & Cunningham, 1999), wobei für eine definitive Aussage aber erst noch weitere Untersuchungen abgewartet werden müssen. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt liegen noch keine Untersuchungen zur Rolle des 5-HT₅- und 5-HT₇-Rezeptors und nur eine zur Rolle des 5-HT₆-Rezeptors vor, die keinen Hinweis auf eine Beteiligung gefunden hat (Frantz et al., 2002).

1.2.8.2 Serotonin und die akuten neurochemischen Effekte von Kokain

Die Untersuchung der physiologischen und neurochemischen Prozesse, die den akuten Verhaltenseffekten von Kokain zugrunde liegen, ist erst seit der Entwicklung genügend sensitiver Analysemethoden möglich. Das Ziel dabei ist es, für jedes Kokain-modulierte Verhalten die neurochemischen Mechanismen aufzudecken, über die Kokain das jeweilige Verhalten beeinflusst. Die Untersuchung des 5-HT-Systems spielt dabei, neben der des DA- und NA-Systems, eine wichtige Rolle, da Kokain primär innerhalb dieser drei monoaminergen Systeme wirkt. Obwohl sich in den letzten 10 Jahren eine relativ große Zahl von Studien mit den physiologischen und neurochemischen Effekten von Kokain im serotonergen System befasst hat, ist angesichts der Komplexität des Systems die Datendecke noch immer relativ dünn.

Kokain ist ein potenter Ligand des SERT und blockiert so die Wiederaufnahme von ausgeschüttetem 5-HT aus dem Extrazellulärraum (Koe, 1976; Ritz et al., 1990). Der daraus resultierende Anstieg in der extrazellulären 5-HT-Konzentration hat eine Reihe weiterer Effekte. Ein Anstieg des extrazellulären 5-HT im Bereich serotonerger Zellkörper, bedingt durch die Kokain-Bindung an somatodendritisch lokalisierte SERTs (Reith et al., 1983), führt zur vermehrten Aktivierung somatodendritischer 5-HT_{1A}-Autorezeptoren (Sprouse & Aghajanian, 1987; Rutter et al., 1995), was wiederum zu einer Inhibierung der Feuerfrequenz serotonerger Neurone (Pitts & Marwah, 1986, 1987; Lakoski & Cunningham, 1988; Cunningham & Lakoski, 1990) und zu einer verringerten 5-HT-Synthese (Galloway, 1990) führt. Paradoxerweise wurde, trotz verringerter Feuerfrequenz serotonerger Neurone, auch ein Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration in den Terminalgebieten beobachtet. Der SERT wurde in weiten Teilen des ZNS gefunden (Sur et al., 1996), die damit alle potentielle Orte eines Kokain-induzierten 5-HT-Anstieges sind. Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist ein Anstieg der 5-HT-Konzentration aber lediglich im DRN (Parsons & Justice, 1993), in der VTA (Parsons & Justice, 1993; Chen & Reith, 1994; Reith et al., 1997), im Thalamus (Rutter et al., 1998), im Striatum (Bradberry et al., 1993) und im Nac (Parsons & Justice, 1993; Essman et al., 1994; Teneud et al., 1996; Andrews & Lucki, 2001) nachgewiesen (Abb. 1). Ein Anstieg des extrazellulären 5-HT in den Terminalregionen bewirkt eine verstärkte Aktivierung der 5-HT-Rezeptoren, was einerseits einen direkten Einfluss auf Verhalten haben kann (siehe: 1.2.7.), andererseits kann es aber auch zu einem Anstieg der extrazellulären Konzentration anderer Transmitter führen (z.B. Parsons & Justice, 1993; Izumi et al., 1994).

Einzelne Komponenten des serotonergen Systems können so auch den Kokain-induzierten Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration, der bisher als „conditio sine qua non“ für die akuten Verhaltenseffekte von Kokain angesehen wurde (Di Chiara & Imperato, 1988; Kuhar et al., 1991; Koob, 1992; Woolverton & Johnson, 1992; Di Chiara, 1995; Wise, 1998), modulieren. So kann der Kokain-induzierte Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration im Nac durch die 5-HT-Vorstufe L-Tryptophan oder den SSRI Alaproclate, nicht aber durch den SSRI Fluoxetine (Clark et al., 1996) geblockt werden (Molina et al., 2001; Czoty et al., 2002). Ebenfalls die Vorbehandlung mit verschiedenen 5-HT₃-Rezeptor Antagonisten kann den DA-Anstieg im Nac und im Striatum blocken (McNeish et al., 1993; Kankaanpää et al., 1996, 2002; siehe aber auch: Cervo et al., 1996). Dagegen hatten die Vorbehandlungen mit einem MAO-Hemmer (Pepper et al., 2001), einem 5-HT_{2A/2C}-Rezeptor Agonisten (Willins & Meltzer, 1998) keinen, bzw. mit einem 5-HT_{1B/1A}-Rezeptor Agonisten (Parsons et al., 1999) einen potenzierenden Effekt auf den Kokain-induzierten Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration. Wie sich die Manipulation einzelner Komponenten des serotonergen Systems auf den Kokain-induzierten Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration auswirken, ist bisher jedoch noch nicht untersucht worden. Den zum Teil bereits gut charakterisierten Effekten serotonerger Manipulationen auf die akuten Verhaltenseffekte von Kokain steht eine komplette Wissenslücke über die neurochemische Mediierung dieser Effekte innerhalb des serotonergen Systems gegenüber.

1.2.8.3 Serotonin und die Langzeiteffekte von Kokain

Eine Beteiligung des serotonergen Systems wurde sowohl für die Verstärkereffekte von Kokain (Peletier & Schenk, 1990; Carroll et al., 1990; Aronson et al., 1995; Sora et al., 2001; Czoty et al., 2002) als auch für die diskriminativen Stimuluseigenschaften gezeigt (Walsh & Cunningham, 1997). Obwohl für die Entwicklung von Sensitivierung zumeist Aminosäuretransmitter verantwortlich gemacht werden (Kalivas et al., 1993; Wolf, 1998), konnte auch eine Beteiligung des serotonergen Systems nachgewiesen werden (De La Garza & Cunningham, 2000; King et al., 2000; Przegaliński et al., 2002a). Cunningham et al. (1992) konnten zeigen, dass nach chronischer Kokain-Gabe die inhibitorische Wirkung von Kokain auf die Feuerfrequenz serotonerger Neurone im DRN deutlich erhöht war, ebenso

wie die Zahl der SERTs in den Terminalgebieten serotonerger Projektionen. Zudem wurde eine verringerte Liganden-Bindung an 5HT_{1A}-Rezeptoren gefunden, was von den Autoren als eine Modifikation der 5-HT-Autoregulation interpretiert wurde (Cunningham et al., 1992). Auf funktionaler Ebene konnte gezeigt werden, dass nach chronischer Kokain-Gabe der Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Nac und in der VTA nach einer Kokain-Injektion gegenüber Kontrollen deutlich erhöht war (Parsons & Justice, 1993).

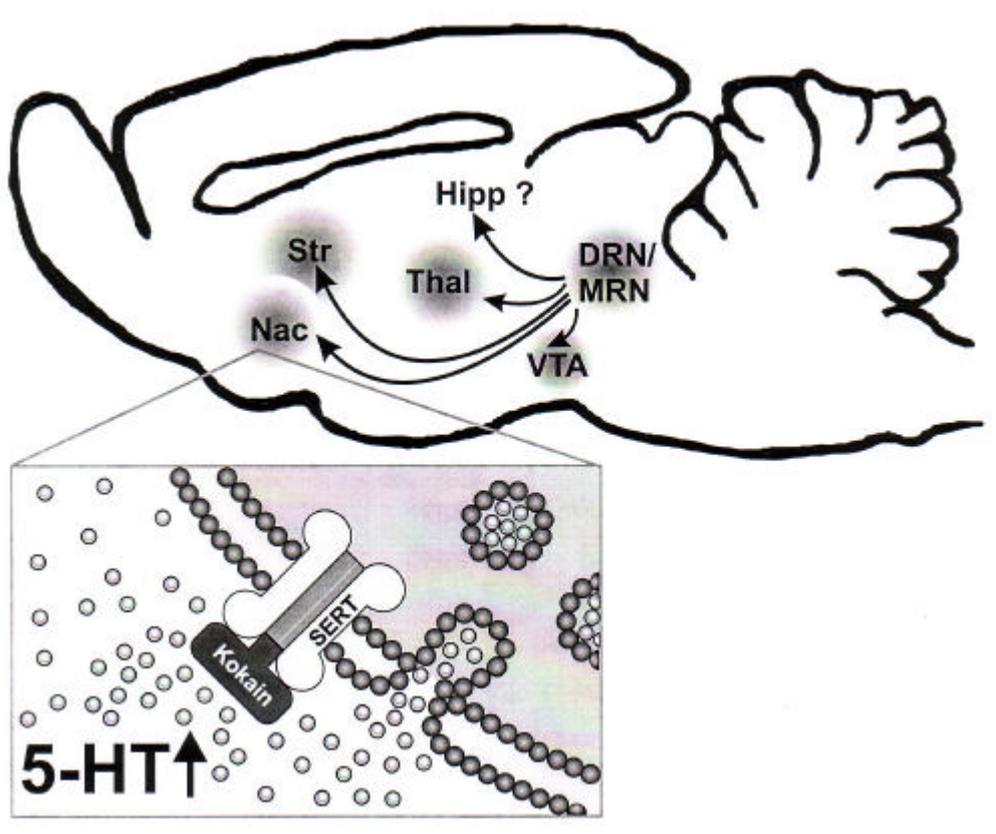


Abb. 1 Die akuten neurochemischen Effekte von Kokain im Rattenhirn. Das obere Schema zeigt einen Transversalschnitt durch ein Rattenhirn. Für alle schattierten Areale wurde bereits ein Anstieg der extrazellulären Serotonin (5-HT)-Konzentration nach Kokain gezeigt. Das untere Schema illustriert die Wirkung von Kokain an der serotonergen Synapse. Kokain bindet am 5-HT-Transporter (SERT) und blockiert so die Wiederaufnahme von 5-HT (helle Kreise) aus dem synaptischen Spalt, was zu einem Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration führt (DRN/MRN – Nucleus Raphe dorsalis und medianus; Hipp - Hippocampus, Str – Striatum; Nac – Nucleus accumbens; Thal – Thalamus; VTA – ventrales tegmentales Areal).

1.3 Der Nucleus accumbens

Der Nac ist nicht nur eine zentrale anatomische Struktur für die Mediiierung von Verstärkereffekten und Effekten von Suchtdrogen auf Verhalten, sondern er unterliegt auch einem starken serotonergen Einfluss. Die serotonergen Effekte von Kokain im Nac sind damit eine mögliche neurochemische Basis für die Modulation der Verhaltenseffekte von Kokain.

1.3.1 Anatomie des Nucleus accumbens

Der Nac befindet sich ventral des Nucleus caudatus und lateral des medialen Septums und des diagonalen Bandes von Broca. Wegen seiner anatomischen Lage und Verschaltungen wird er zum ventralen Striatum gezählt (Heimer & Van Hoesen, 1979). Heimer & Wilson (1975) hatten postuliert, dass der gesamte Neo- und Allokortex, über Projektionen zum Striatum, Einfluss auf die Basalganglien ausübt. Den Projektionen des Neokortex zum dorsalen Striatum hatten sie Projektionen des Allokortex zum ventralen Striatum gegenübergestellt. Das ventrale Striatum und ventrale Pallidum (VP) wurden als Komponenten eines zweiten motorischen Parallelschaltkreises angesehen, dessen Funktion es sein sollte, den emotionalen und motivationalen Zentren im ZNS einen Zugriff auf die Organisation von Motorik zu ermöglichen (Heimer et al., 1982). Der Nac wurde dabei als funktionale Schnittstelle zwischen „Motivation und Aktion“ postuliert (Mogenson et al., 1980).

Der Nac kann histochemisch in drei Subareale unterteilt werden: in die Core-Region, die Shell-Region und in den rostralen Pol (Groenewegen & Russchen, 1984; Zaborsky et al., 1985). In der Shell-Region fand man eine dichte serotonerge und dopaminerge Innervierung und hohe cholinerge und Substanz P-erge Aktivität, aber nur eine moderate enkephalinerge Aktivität. Im Gegensatz dazu zeigte die Core-Region eine geringere Dichte der serotonergen und dopaminergen Innervierung sowie weniger cholinerge und keine enkephalinerge Aktivität. Im rostralen Pol fand man große Gebiete mit hoher enkephalinerger Aktivität, jedoch nur geringer serotonerger, dopaminerger, cholinерger und Substanz P-erger Innervierung (Groenewegen et al., 1991; Deutch & Cameron, 1992; Van Bockstaele & Pickel, 1993; Meredith et al., 1995).

1.3.1.1 Afferenzen und Efferenzen des Nucleus accumbens

Der Nac erhält subkortikale Afferenzen aus dem Subiculum des Hippocampus, der Amygdala, dem Thalamus, dem Hypothalamus, dem VP, der Substantia innominata, dem Nucleus subthalamicus, der VTA, dem LC und dem DRN. Zu diesen subkortikalen Eingängen in den Nac kommen noch Projektionen aus verschiedenen kortikalen Gebieten hinzu. Kortikale Afferenzen stammen aus dem cingulären, dem insulären, dem infralimbischen und dem piriformen Kortex (Groenewegen et al., 1980, 1991; Zahm & Brog, 1992; Pennartz et al., 1994).

Die Efferenzen des NAc können in limbische Strukturen innervierende und Basalganglien innervierend Komponenten unterteilt werden. Zahm & Heimer (1990) postulierten zwei transpallidale Projektionswege bei der Ratte, die im Nac ihren Ursprung haben. Zum einen sind dies Projektionen zum ventromedialen Anteil des VP. Vom ventralen VP ziehen dann Projektionen zur VTA, dem Thalamus und zum Hypothalamus. Diese Projektionen werden auch als „ventromediale Achse“ bezeichnet. Zum anderen gibt es Projektionen zum dorsolateralen VP, die als „ventrolaterale Achse“ bezeichnet werden. Vom dorsolateralen VP ziehen dann Projektionen zur SN und dem Nucleus subthalamicus (Zahm & Heimer, 1990; Zaborszky & Cullinian, 1992; Zahm, 2000). Darüber hinaus sind aber auch direkte Projektionen aus dem Nac zur SN, in die VTA, und in den Hypothalamus beschrieben worden (Pennartz et al., 1994). Die Core- und Shell-Regionen des Nac unterscheiden sich nicht nur histochemisch, sondern auch in Bezug auf ihre Afferenzen und Efferenzen. Während die Core-Region Bestandteil der Schleife prälimbischer Kortex - Nac (Core) - dorsolaterales VP - Nucleus subthalamicus – prämotorischer Kortex ist, übt die Shell-Region ihren Einfluss eher auf subkortikale motorisch assoziierte Areale aus.

1.3.2 Neuronale Aktivität im Nucleus accumbens

Auf zellulärer Ebene findet man im Striatum etwa 90% mittelgroße Spine-besetzte Projektionsneurone (engl.: medium spinal projection neurons, MSN), die GABA/Enkephalin oder GABA/Substanz P als Transmitter verwenden. Die restlichen Neurone sind cholinerge, GABAerge und Somatostatin/Neuropeptid Y-positive Interneurone (Bolam & Bennett, 1995). Bei den dopaminergen und serotonergen Projektionen in den Nac bzw. bei cholinergen Interneuronen geht man davon aus,

dass diese den Arbeitszustand der MSN regulieren, also modulatorisch wirken (Di Chiara et al., 1994; Descarries & Umbriaco, 1995). In-vivo zeigen die MSN im Nac eine mittlere bis geringe Ruheaktivität, die bei Wachheit und REM-Schlaf am höchsten ist. Das Ruhepotential der Neurone ist mit -70 bis -85 mV relativ stark negativ. Die Summe der exzitatorischen postsynaptischen Potentiale muss eine Differenz von 25-35 mV überwinden, um ein Aktionspotential auszulösen, was mehr ist, als in den meisten anderen Hirnarealen. Es entspricht etwa der gleichzeitigen Aktivität von 16-46 glutamatergen Eingängen. Dabei nimmt man an, dass immer ganze neuronale Ensembles erregt werden und aktiv sind (Pennartz et al., 1994). Die MSN verfügen über lange und kurze inhibitorisch wirkende Axonkollateralen der Projektionen, die den Nac verlassen. Die kurzen Axonkollateralen terminieren innerhalb eines neuronalen Ensembles, wobei man annimmt, dass dadurch ein Angleichen der neuronalen Aktivität innerhalb eines Ensembles stattfindet. Die langen Axonkollateralen dagegen verlassen das jeweilige neuronale Ensemble und terminieren in benachbarten Ensembles, wodurch es zu einer kompetitiven Hemmung benachbarter Ensembles kommen kann (Pennartz et al., 1994), was möglicherweise die anatomische Basis für eine Kompetition auf Verhaltensebene darstellt.

Die Ableitung einzelner Neurone im Nac bei Primaten ergibt ein vielfältiges Bild der Aktivität. Rolls & Williams (1988) fanden Neurone, die auf neutrale visuelle Stimuli, visuelle Stimuli mit emotionaler Signifikanz und mit Verstärkern assoziierte Stimuli reagierten und Neurone, die bei somatosensorischer Stimulierung aktiv waren. Bei den Neuheit- und Verstärker-bezogenen Antworten der Neurone nimmt man an, dass es sich um Aktivitäten handelt, die durch Amygdala- und Hippocampus-Projektionen in den Nac induziert werden (Williams et al., 1993). O'Donell & Grace (1995) fanden, dass die Aktivierung der Nac-Eingänge aus dem Hippocampus, jedoch nicht der Eingänge aus der Amygdala, die MSN in einen depolarisierten und damit aktivierten Zustand bringen. Projektionen aus dem Subiculum des Hippocampus und der Amygdala konvergieren auf denselben Neuronen im Nac, die zugleich der dopaminergen Modulation aus der VTA unterliegen (DeFrance et al., 1980; Yim & Mogenson, 1982; Boeijinga et al., 1993; Yang & Mogenson, 1984, 1985, 1986; Sesack & Pickel, 1990; Mulder et al., 1996; Kalivas & Duffy, 1997). Parallel dazu modulieren aber auch glutamaterge Projektionen aus dem Hippocampus (Brudzynski & Gibson, 1997) und der Amygdala (Jackson & Moghaddam, 2001) die DA-Aktivität

im Nac. Ein großer Teil der Neurone im Nac reagiert auf sensorische Stimuli, wobei wieder ein großer Teil davon durch VTA-Stimulierung seine Antwort verändert (West & Michael; 1990).

1.3.3 Der Nucleus accumbens und das Belohnungssystem des ZNS

Verschiedene Studien bringen den Nac in Zusammenhang mit der Adaptation von Verhalten (Wilson, 1983; Fantin & Bottechina, 1984; Schwarting & Carey, 1985; Pennartz et al., 1993). Neuere Konzepte weisen dem Nac dabei eine zentrale Position im Belohnungssystem des ZNS zu (Gardner, 1997; Wise, 1998; Spanagel & Weiss, 1999). Innerhalb des Belohnungssystems projizieren Verstärkerneurone der „ersten Stufe“, die sich diffus verteilt im anterioren Vorderhirn befinden, über das MFB auf Neurone in der VTA. Die dopaminergen Neurone der VTA werden als Verstärkerneurone der „zweiten Stufe“ bezeichnet und projizieren ebenfalls über Fasern im MFB zum Nac. Innerhalb dieses Belohnungssystems nehmen die Projektionsneurone des Nac die Rolle von Verstärkerneuronen der „dritten Stufe“ ein, die GABAerg ins VP projizieren, wo sich die Verstärkerneurone der „vierten Stufe“ befinden (Gardner, 1997; Wise, 1998; Spanagel & Weiss, 1999). Die Aktivität der einzelnen Stufen innerhalb des Belohnungssystems ist dabei entscheidend für den Einfluss, den ein konditionierter oder unkonditionierter Stimulus auf die Auftrittswahrscheinlichkeit eines bestimmten Verhaltens hat (Huston, 1975; Milner, 1991; Hasenöhl et al., 2002). Besondere Bedeutung wurde dabei der dopaminergen Projektion von der VTA zum Nac beigemessen. Die ursprüngliche Annahme, dass das dopaminerge Signal im Nac den hedonischen Tonus im ZNS bzw. ein Anstieg im Nac DA den Belohnungswert eines Stimulus kodiert (Wise, 1980; 1994; Wise & Bozarth, 1987, Wise & Rompre, 1989), gilt mittlerweile als zu starke Abstraktion (Salamone, 1994, 1996; Salamone et al., 1997; Hollerman & Schultz, 1998; Schultz, 1998, 2000; Salamone & Correa, 2002). Im Gegensatz zur dopaminergen Innervierung des dorsalen Striatums, die eine wichtige Rolle bei konsumatorischem Verhalten spielt, ist DA im Nac vor allem bei approximativem Verhalten von Bedeutung (Robbins et al., 1989; Robbins & Everitt, 1992), wobei es eher eine „energetisierende“ Funktion hat, die den Einfluß sensorischer Stimuli auf die Auftrittswahrscheinlichkeit eines bestimmten Verhaltens erhöht (Robinson & Berridge, 1993; Di Chiara et al., 1994; Cousins & Salamone, 1996; Di Chiara, 2002;

Salamone & Correa, 2002). Insbesondere die Interaktion zwischen den dopaminergen Projektionen aus der VTA und den glutamatergen Projektionen spielt bei der Regulierung lokomotorischer Aktivität durch den Nac eine bedeutende Rolle (Swanson & Kalivas, 2000). Sowohl die pharmakologische Stimulierung des Subiculus als auch eine Glutamat-Applikation in den Nac führen zu erhöhter lokomotorischer Aktivität, die durch DA-Entleerung des Nac mittels 6-Hydroxydopamine (6-OH-DA) oder Glutamat-Antagonismus im Nac geblockt werden kann (Mogenson & Nielsen, 1984; Burns et al., 1994; Wu & Brudzynski, 1995). Es konnte gezeigt werden, dass der Einfluss des Nac auf lokomotorische Aktivität über die GABAergen Projektionen des Nac ins VP mediiert wird (Mogenson & Nilesen, 1983). Neben den glutamatergen und dopaminergen Projektionen modulieren aber auch serotonerge Projektionen die Aktivität der GABAergen Neurone des Nac (Van Bockstaele & Pickel, 1993; White et al., 1993; Van Bockstaele et al., 1996; Brown & Molliver, 2000).

1.3.4 Der Nucleus accumbens und Kokain

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass die akuten Verhaltenseffekte einer systemischen Kokain-Injektion durch die Applikation von Kokain in den Nac simuliert werden können, was darauf hinweist, dass der Nac eine zentrale Rolle bei den akuten Verhaltenseffekten von Kokain spielt (Kelly & Iversen, 1976; Delfs et al., 1990; Ikemoto, 2002). Kokain blockiert nach lokaler Applikation in den Nac die Wiederaufnahme von DA, 5-HT und NA in die Präsynapse und erhöht so die extrazelluläre Konzentration der jeweiligen Transmitter (z.B. Reith et al., 1997; Andrews & Lucki, 2001), die ihrerseits mit anderen Transmittersystemen interagieren. Neben einer erhöhten extrazellulären DA-, 5-HT- und NA-Konzentration hat man im Nac nach Kokain auch erhöhte Konzentrationen von ACh (Consolo et al., 1999), Glutamat (Smith et al., 1995; Reid et al., 1997; siehe aber auch: Robinson et al., 1995), Aspartat (Smith et al., 1995), Endorphin (Olive et al., 2001) und Cholecystokinin (Beinfeld et al., 2002) gefunden. Über einen Anstieg der extrazellulären Transmitterkonzentration wird die neuronale Aktivität der MSN im Nac moduliert (White, 1990; White et al., 1993). Dabei hat man lange Zeit den Anstieg der DA-Konzentration im Nac für die akute Hyperaktivität nach Kokain verantwortlich gemacht (Rothman et al., 1992). Mittlerweile gilt es als erwiesen, dass auch die

glutamatergen Projektionen in den Nac für die akuten Verhaltenseffekte von Kokain eine bedeutende Rolle spielen (Pulvirenti et al., 1989, 1991; Kaddis et al., 1993; Karler et al., 1994; Robinson et al., 1995; Kim et al., 1996), wobei Glutamat auch den DA-Anstieg im Nac nach Kokain beeinflussen kann (Pap & Bradberry, 1995). Andere Studien haben zudem eine wichtige Rolle der serotonergen Innervierung des Nac für die akuten Verhaltenseffekte von Kokain berichtet. Kokain-induzierte Hyperaktivität kann nicht nur durch die systemische Applikation verschiedener 5-HT-Rezeptor Agonisten und Antagonisten moduliert werden (siehe 1.2.8.1.), sondern auch durch eine lokale Applikation in den Nac (McMahon et al., 2001; Filip & Cunningham, 2002; Herges & Taylor, 2000; Przegaliński et al., 2002b). Verschiedene Autoren gehen davon aus, dass Kokain und andere Suchtdrogen ihre Wirkung auf Verhalten innerhalb des „natürlichen“ Belohnungssystems entfalten, wobei häufig die dopaminerge Projektion von der VTA zum Nac als primärer Angriffspunkt für Suchtdrogen gesehen wird (Di Chiara & Imperato, 1988; Koob, 1992; Wise, 1998; Spannagel & Weiss, 1999; Di Chiara, 2002; Everitt & Wolf, 2002; Volkow et al., 2002; siehe aber auch: Bardo, 1998; Carelli et al., 2000). Ob die neurochemischen Effekte von Kokain im Nac für die akuten euphorischen Effekte und die Verstärkerwirkung von Kokain verantwortlich sind, gilt jedoch als umstritten (Pettit et al., 1984; Tzschentke, 1998; McBride et al., 1999).

1.4 Der Hippocampus

Der Hippocampus ist im Zusammenhang mit Kokain eine bisher nur wenig untersuchte Struktur. Dennoch stellt er aufgrund seiner Verschaltungen, d.h. als ein wichtiger Eingang in den Nac und damit in den Belohnungsschaltkreis des ZNS, und aufgrund seiner intensiven serotonergen Innervierung eine mögliche anatomisch-neurochemische Basis für die Verhaltenseffekte von Kokain dar.

1.4.1 Anatomie des Hippocampus

Der Hippocampus kann grob in sechs verschiedene Regionen unterteilt werden: in den Gyrus dentatus, das Cornu ammonis, das Subiculum, das Präsubiculum, das Parasubiculum und den entorhinalen Kortex. Das Cornu ammonis (CA) kann dabei noch in drei Untereinheiten (CA1, CA2 und CA3) unterteilt werden. Der Gyrus

dentatus erhält seinen Haupteingang über den Tractus perforans vom entorhinalen Kortex. Die Körnerzellen des Gyrus dentatus projizieren topographisch organisiert über Moos-Fasern zur CA3-Region des Hippocampus. Die Pyramidenzellen der CA3-Region senden Axonkollateralen, die als Schaffer-Kollateralen bezeichnet werden, zu anderen CA3-Zellen, zu CA2-Zellen und in die CA1-Region. Von der CA1-Region ziehen Projektionen zurück zum entorhinalen Kortex und zum Subiculum. Die Projektionen vom entorhinalen Kortex bis zur CA1-Region benutzen Glutamat als Transmitter und verlaufen zum größten Teil transvers zur Längsachse des Hippocampus. Das Subiculum ist der Ursprungsort der meisten subkortikalen Projektionen des Hippocampus. Vom entorhinalen Kortex und anderen parahippocampalen Arealen ziehen Projektionen zu den kortikalen Arealen, aus denen der enthorhinale Kortex Afferenzen erhält. Für eine detaillierte Beschreibung der intrinsischen und extrinsischen Verschaltungen des Hippocampus sei an dieser Stelle auf die Übersichtsarbeiten von Bayer (1985), Swanson et al. (1987), Amaral & Witter (1989), Heimer (1995) und Johnston & Amaral (1998) verwiesen.

1.4.1.1 Afferenzen und Efferenzen des Hippocampus

Der Hippocampus erhält Afferenzen aus einer Vielzahl unterschiedlicher Strukturen: aus verschiedenen kortikalen Arealen, der Amygdala, dem medialen Septum, dem diagonalen Band von Broca, dem Thalamus, aus supramamillaren Regionen und aus mesencephalen Kerngebieten, wie dem MRN/DRN, dem LC und der VTA. Die meisten kortiko-hippocampalen Fasern terminieren im entorhinalen Kortex. Einige dieser Kortizes sind multimodale Konvergenzareale, die auch zu parahippocampalen Arealen projizieren. Da der entorhinale Kortex auch Rezipient olfaktorischer Informationen aus dem Bulbus olfactorius und dem Kortex ist, nimmt man an, dass der Hippocampus über den enthorhinalen Kortex hochgradig verarbeitete Informationen aus allen Sinnesmodalitäten erhält (Jones, 1993). Zudem erhält der Hippocampus substantielle Eingänge aus verschiedenen Kernen der Amygdala und des Thalamus. Ein anderer Eingang in den Hippocampus hat seinen Ursprung im medialen Septum und im diagonalen Band von Broca. Projektionsfasern ziehen über die Fimbria/Fornix zum Hippocampus und sind verantwortlich für die cholinerge Innervierung des Hippocampus. Allerdings ziehen vom basalen Vorderhirn auch GABAerge und Substanz P-erge Projektionen zum Hippocampus. Diese

Projektionen terminieren in der Fascia dentata und dem CA. Projektionen aus supramammillären Regionen ziehen über die Fornix zur Fascia dentata und zur CA3-Region. Der gesamte Hippocampus ist unter serotonergerm Einfluss (Parent et al., 1984; Swanson et al., 1987; Jacobs & Fornal, 1999). Im Gegensatz zum Nac unterliegt der Hippocampus jedoch nur einem geringen dopaminergen Einfluss. Serotonerge Projektionen erreichen den Hippocampus aus dem DRN und MRN (Mokler et al., 1998). Diese Projektionen terminieren dabei sowohl an den Prinzipalzellen als auch an GABAergen Interneuronen im Hippocampus (Freund et al., 1990; Freund & Gulyas, 1997; Gulyas et al., 1999). Die zellulären Effekte von 5-HT im Hippocampus sind sehr vielfältig und hängen zum einen vom Neuronentyp und zum anderen von der Unterregion des Hippocampus ab (Andrade & Nicoll, 1987; Colino & Halliwell, 1987; Sprouse & Aghajanian, 1987; Ropert, 1988; Segal et al., 1989; Richter-Levin & Segal, 1990; Segal, 1990a).

Die Efferenzen des Hippocampus können nach ihren Zielgebieten unterteilt werden in: Efferenzen des CA, subiculäre Anteile des Fornix und nicht-fornikale Efferenzen. Präkommissurale Fornix-Fasern, die ihren Ursprung in allen Gebieten des CA haben und vermutlich Glutamat als Transmitter benutzen, terminieren im lateralen Septum. Das laterale Septum projiziert seinerseits GABAerg zum medialen Septum, welches ein Ursprungsgebiet der cholinergen Innervierung des Hippocampus ist. Die präkommissuralen Fornix-Fasern, die ihren Ursprung im Subiculum haben, projizieren zum Nac, wo sie auf den MSN und auf cholinergen Interneuronen terminieren (Meredith & Wouterlood, 1990; Sesack & Pickel, 1990). Die Projektion vom Subiculum zum Nac stellt dabei eine bedeutende Verbindung zwischen dem limbischen System und den motorischen Schaltkreisen im ZNS dar (Mogenson et al., 1980). Andere Fornix-Fasern ziehen vom Subiculum zum anterioren olfactorischen Nucleus, zum präkommissuralen Hippocampus und zum medialen Frontalkortex. Der postkommissurale Fornix enthält neben hippocampalen Afferenzen nur Fasern, die aus dem Subiculum stammen. Die meisten dieser subiculären Efferenzen terminieren in den Mamillarkörpern, im Thalamus und im Hypothalamus. Neben diesen Verbindungen fand man massive reziproke Projektionen vom Subiculum in den benachbarten entorhinalen Kortex. Über den entorhinalen und perirhinalen Kortex ist der Hippocampus reziprok mit einer Vielzahl kortikaler Areale verbunden (Jones, 1993).

1.4.2 Die Funktion des Hippocampus

Der Hippocampus ist eng mit der Generierung lokomotorischer Aktivität verbunden, wobei eine Läsion des Hippocampus zu erhöhter Lokomotion führt (Campbell et al., 1971; Caine et al., 2001). Die pharmakologische Modulation des Hippocampus mittels N-methyl-D-Aspartat (NMDA; Brudzynski & Gibson, 1997; Bardgett & Henry, 1999; Bast et al., 2001a; Zhang et al., 2002), GABA_A-Antagonisten (Bast et al., 2001b), aber auch mit ACh-Agonisten (Shen et al., 1995) kann ebenfalls Hyperlokomotion auslösen, wogegen GABA_A-Agonisten Hypolokomotion induzieren (Bast et al., 2001b). Es konnte zudem gezeigt werden, dass hippocampal induzierte Hyperlokomotion über Projektionen zum Nac mediiert wird (Mogenson & Nielsen, 1984; Shen et al., 1995). Hyperlokomotion konnte auch durch die intra-hippocampale Applikation von 5-HT oder eines MAO-Blockers, der die extrazelluläre 5-HT-Konzentration im Hippocampus erhöht, ausgelöst werden (Takahashi et al., 2000, 2002; siehe aber auch: Shim et al., 1997). Diese Befunde stützen nicht nur die Rolle des Hippocampus bei der Generierung von lokomotorischer Aktivität, sondern auch die Bedeutung der serotonergen Innervierung des Hippocampus.

Eine besondere Rolle wird dem Hippocampus bei Lern- und Gedächtnisprozessen (Squire & Knowlton, 1995; Eichenbaum, 1997; McGaugh, 2000), bei der klassischen Konditionierung (Anagnostaras et al., 2001; Bast et al., 2001c), aber auch bei Belohnungs- und Verstärkungsprozessen (Schmelzeis & Mittelman, 1996; Zimmermann et al., 1997) zugeschrieben. Der Hippocampus innerviert den Nac und die VTA durch glutamaterge Projektionen (Kelley & Domesick, 1982; DeFrance et al., 1980; Yang & Mogenson, 1984, 1985; Groenewegen et al., 1987) und moduliert damit die Aktivität in zwei zentralen Strukturen des Belohnungsschaltkreises (Brudzynski & Gibson, 1997; Legault & Wise, 1999; Legault et al., 2000). Frühe Studien haben gezeigt, dass intrakranielle Selbststimulation (ICSS) auch im Hippocampus auslösbar ist, wobei jedoch starke Unterschiede zwischen den einzelnen Substrukturen des Hippocampus beobachtet wurden (Ursin et al., 1966). Van der Kooy et al. (1977) konnten zeigen, dass ICSS im Hippocampus von der serotonergen, nicht jedoch von der noradrenergen Innervierung abhängt. Man nimmt zudem an, dass der Hippocampus Informationen über die räumliche Komponente (Selden et al., 1991; Wilkinson et al., 1996) und über den verhaltensaktivierenden Wert eines natürlichen oder sekundären Verstärkers oder eines konditionierten

aversiven Stimulus (Schmelzeis & Mittelman, 1996; Hitchcott & Phillips, 1997) in den Belohnungsschaltkreis des ZNS projiziert.

Im Hippocampus der Ratte wurden Zellen gefunden, welche die Umwelt des Organismus kodieren können, die sogenannten „place cells“ (Ranck, 1973; O'Keefe, 1976). Der Hippocampus ist damit in der Lage, eine „kognitive Landkarte“ seiner Umgebung anzulegen, in der die komplexen Beziehungen zwischen verschiedenen Stimuli kodiert werden können (O'Keefe & Nadel, 1978). Die Aktivität der Zellen ist dabei nicht nur von der jeweiligen Umgebung abhängig, sondern auch davon, mit welcher Geschwindigkeit sich der Organismus durch diese Umgebung bewegt (Eichenbaum & Cohen, 1988). Eine Erweiterung der Annahme, dass der Hippocampus assoziative Verbindungen zwischen nicht kontingenten Reizen herstellt, bezieht diese Funktion nicht mehr nur auf topographische Gegebenheiten, sondern auch auf zeitliche Ereignisse (Wallenstein et al., 1998). Neben der Aktivität anderer Transmitter ist auch die 5-HT-Ausschüttung bei hippocampal medierter Plastizität erhöht (Stancampiano et al., 1999). In grundlegenden Studien zur neuronalen Plastizität konnte gezeigt werden, dass die Präsenz von 5-HT eine wichtige Voraussetzung ist (z.B. Bailey et al., 1996; Byrne & Kandel, 1996; Milner et al., 1998; Casadio et al., 1999), um die Reaktivität hippocampaler Neurone gegenüber afferenten Eingängen zu modulieren (Richter-Levin & Segal, 1988; Norman et al., 2001). Innerhalb des Hippocampus geht man davon aus, dass die tonische Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors für den Erhalt der neuronalen Plastizität hippocampaler Neurone unabdingbar ist (Azmitia & Withaker-Amitia, 1999). Fehlen 5-HT_{1A}-Rezeptoren, wie z.B. bei 5-HT_{1A}-Rezeptor knock out Mäusen (Sarnyai et al., 2000), oder kommt es zur Überaktivierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren (Carli et al., 1992, 1995a; Carli & Samanin, 1992), werden Defizite beim hippocampal mediierten Lernen beobachtet.

1.4.3 Der Hippocampus und Kokain

Die Rolle des Hippocampus bei den Verhaltenseffekten von Kokain ist bisher nur wenig untersucht worden. Die starke serotonerge und noradrenerge Innervierung des Hippocampus und der Nachweis von SERT und NAT im Hippocampus (Sur et al., 1996), machen neurochemische Effekte von Kokain im Hippocampus sehr wahrscheinlich. Dementsprechend konnte bisher gezeigt werden, dass Kokain die

extrazelluläre NA-Konzentration im Hippocampus bei der frei beweglichen (Florin et al., 1994, 1995), nicht jedoch bei der anästhetisierten (Thomas et al., 1994), Ratte erhöht. Imperato et al. (1993, 1996) fanden zudem einen Anstieg der extrazellulären ACh-Konzentration im Hippocampus von Mäusen und Ratten nach Kokain-Gabe. Die Effekte von Kokain auf die extrazelluläre 5-HT-Konzentration im Hippocampus sind bisher nicht untersucht. Neben den Effekten auf die extrazelluläre Transmitterkonzentration verändert Kokain auch die zelluläre Aktivität und die neuronale Plastizität im Hippocampus (Jahromi et al., 1993; Rector et al., 1993; Smith et al., 1993; Onaivi et al., 1996; Ye et al., 1997).

Die Beteiligung des Hippocampus an den Langzeiteffekten von Kokain ist bisher umstritten. So fand man nach Läsion des Subiculus nur subtile Effekte auf die Kokain-Selbstverabreichung bei Ratten (Caine et al., 2001). Dagegen führte die elektrische Stimulierung des Hippocampus (theta-Stimulierung) zum Wiedereinsetzen von Kokain-Suchverhalten während einer Extinktions-Phase (Vorel et al., 2001). Über seine Projektionen zum Nac kann der Hippocampus Einfluss auf motorische Aktivität nehmen. Die Kokain-induzierte Aktivierung des Hippocampus könnte so auch an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain beteiligt sein.

1.5 Ziele und Fragestellungen

Das Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung der Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei den akuten neurochemischen- und Verhaltenseffekten von Kokain. Bisher nahm man an, dass akute Kokain-induzierte Hyperaktivität durch den Nac mediiert wird (Kelly & Iversen, 1976; Delfs et al., 1990; Ikemoto, 2002). Weiterhin ging man bisher davon aus, dass insbesondere der Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration im Nac ein essentieller Mechanismus dafür ist (siehe 1.1.5.). Ausgehend von den Beobachtungen von Carey et al. (1998, 2000), die gezeigt haben, dass Kokain-induzierte Hyperaktivität durch pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors gehemmt werden kann, sollte in Experiment I untersucht werden, ob diese Verhaltensinhibierung durch eine veränderte dopaminerge Antwort im Nac mediiert wird. Dazu wurde wie in allen anderen Experimenten die Methode der in-vivo Mikrodialyse an frei beweglichen Ratten benutzt, die es ermöglicht, sowohl den zeitlichen Verlauf der extrazellulären Transmitterkonzentration im Nac bzw. in den weiterführenden Experimenten II-IV auch im Hippocampus, als auch die

Verhaltensaktivität vor und nach pharmakologischer Behandlung zu messen. Das Messen der Verhaltensaktivität sollte dabei zur Überprüfung der Verhaltensbefunde von Carey et al. (1998, 2000) dienen und zugleich Ausgangsbasis für die Interpretation der neurochemischen Ergebnisse sein. Folgende Fragestellungen waren in Experiment I von Interesse:

- Kann die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors Kokain-induzierte Hyperaktivität inhibieren?
- Verändert die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors dabei den Kokain-induzierten Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration im Nac bzw. verändert sie die Kokain-induzierte Hemmung der DA-Syntheseaktivität im Nac?
- Welche Effekte hat die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors allein auf die spontane Verhaltensaktivität, den zeitlichen Verlauf der DA-Konzentration und die DA-Syntheseaktivität im Nac?

Aus diesem Experiment ergaben sich nach Auswertung der Ergebnisse weiterführende Fragestellungen für nachfolgende Experimente. So wurde die Frage interessant, welchen Effekt die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors allein oder in Kombination mit einer Kokain-Applikation auf den zeitlichen Verlauf der 5-HT-Konzentration im Nac und Hippocampus hat. Vom Hippocampus zieht eine wichtige Projektion in den Nac, der an der Regulierung spontaner und Neuheits-induzierter lokomotorischer Aktivität beteiligt ist (siehe 1.4.3.). Sowohl Nac als auch Hippocampus unterliegen einem starken serotonergen Einfluss. Im Gegensatz zum Nac ist jedoch die Beteiligung der serotonergen Innervierung des Hippocampus an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain bisher nicht untersucht worden. Die Messung der Verhaltensaktivität diente auch hier der Replikation eigener und fremder (Carey et al., 1998, 2000) Befunde. Folgende Fragestellungen sollten in Experiment II untersucht werden:

- Können die Verhaltensbefunde aus Experiment I, nämlich eine Inhibierung Kokain-induzierter Hyperaktivität durch pharmakologische 5-HT_{1A}-Rezeptor-Blockade, repliziert werden?

- Steigt parallel zu Kokain-induzierter Hyperaktivität auch die extrazelluläre 5-HT-Konzentration im Nac und Hippocampus an bzw. verringert sich die 5-HT-Syntheseaktivität in beiden Strukturen?
- Verändert die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors den Kokain-induzierten Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Nac und Hippocampus bzw. verändert sie die Kokain-induzierte Hemmung der 5-HT-Syntheseaktivität in beiden Strukturen?
- Welche Effekte hat die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors allein auf spontane Verhaltensaktivität, den zeitlichen Verlauf der 5-HT-Konzentration und die 5-HT-Syntheseaktivität im Nac und Hippocampus?

Um die Beteiligung des serotonergen Systems an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain noch eingehender zu untersuchen, sollten nicht nur die Effekte einer pharmakologischen Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors auf spontanes und Kokain-induziertes Verhalten und die 5-HT-Aktivität im Nac und Hippocampus untersucht werden, sondern auch die Effekte einer pharmakologischen Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors. Auf der Verhaltensebene wurde bereits gezeigt, dass die pharmakologische Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors zu einer Potenzierung Kokain-induzierter Hyperlokomotion, jedoch gleichzeitig zu einer Abschwächung Kokain-induzierten Aufrichtverhaltens führt (De La Garza & Cunningham, 2000; Carey et al., 2002). Die Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors hatte dabei im verwendeten Dosisbereich keinen Effekt auf die Spontanaktivität. Im hier durchgeführten Experiment III war deshalb von Interesse, ob die pharmakologische Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors nicht nur die Verhaltenseffekte von Kokain moduliert, sondern auch den Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Nac und im Hippocampus. Die in Experiment III untersuchten Fragestellungen waren dabei:

- Kann die pharmakologische Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors Kokain-induzierte Hyperlokomotion potenzieren?
- Verändert die pharmakologische Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors den Kokain-induzierten Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Nac und Hippocampus bzw. verändert sie die Kokain-induzierte Hemmung der 5-HT-Syntheseaktivität in beiden Strukturen?

- Welche Effekte hat die pharmakologische Stimulierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors allein auf spontane Verhaltensaktivität, den zeitlichen Verlauf der 5-HT-Konzentration und die 5-HT-Syntheseaktivität im Nac und Hippocampus?

Die Ergebnisse von Experiment II und III haben deutliche Hinweise auf eine Beteiligung der serotonergen Innervierung des Hippocampus bei 5-HT_{1A}-Rezeptor induzierter Modulation der akuten Verhaltenseffekte von Kokain ergeben. Die Dichte des 5-HT_{1A}-Rezeptors ist hoch in den Raphe´ Nuclei und in limbischen Strukturen, wie dem Hippocampus, dagegen gering im Nac (Verge et al., 1986; Palacios et al., 1990; Pompeiano et al., 1992). Die Effekte systemischer 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung konnten also entweder durch präsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren in den Raphe´ Nuclei oder/und durch postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren in den Terminalgebieten mediiert sein. In Experiment IV sollte deshalb die Rolle der hippocampalen 5-HT_{1A}-Rezeptoren, die zu den postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren zählen, bei den akuten neurochemischen- und Verhaltenseffekten von Kokain untersucht werden. Folgende Fragestellungen waren in Experiment IV von Interesse:

- Kann die selektive pharmakologische Stimulierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren Kokain-induzierte Hyperaktivität modulieren?
- Verändert die selektive pharmakologische Stimulierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren den Kokain-induzierten Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Hippocampus und im Nac bzw. verändert sie die Kokain-induzierte Hemmung der 5-HT-Syntheseaktivität in beiden Strukturen?
- Welche Effekte hat die selektive pharmakologische Stimulierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren allein auf spontane Verhaltensaktivität, den zeitlichen Verlauf der 5-HT-Konzentration und die 5-HT-Syntheseaktivität im Hippocampus und Nac?

Alle hier beschriebenen Experimente wurden mittels der in-vivo Mikrodialyse an der frei beweglichen Ratte durchgeführt. Diese Technik ermöglicht es, die Verhaltensaktivität und die extrazelluläre Konzentration eines Neurotransmitters und seiner Metaboliten in einem oder mehreren Hirngebieten gleichzeitig am selben Tier zu messen. Die Analyse der durch die in-vivo Mikrodialyse gewonnenen Proben

wurde dabei mittels hoch auflösender Flüssigkeitschromatographie (HPLC), gekoppelt mit elektrochemischer Detektion (EC), durchgeführt, einem Verfahren, das eine sehr gute Selektivität und Sensitivität der Transmitteranalyse ermöglicht (Zetterström et al., 1983; Cheng & Kou, 1995).

2 Methoden

2.1 Theoretischer Teil

2.1.1 Das Prinzip der in-vivo Mikrodialyse

Die Signalübertragung zwischen Neuronen im ZNS findet zu über 99% durch chemische Synapsen statt (Greengard, 2001). Dabei wird von der Präsynapse, bei Eintreffen eines Aktionspotentials, durch Exocytose der Transmitter in den Extrazellulärraum freigesetzt. Innerhalb des Extrazellulärraums diffundiert er und interagiert mit Rezeptoren, bis er entweder metabolisiert oder durch aktiven oder passiven Transport aus dem Extrazellulärraum entfernt wird (Feldman et al., 1997). Der Extrazellulärraum war lange Zeit einer Untersuchung nur sehr schwer zugänglich. Verschiedene Techniken, wie ventrikuläre Perfusion, „push-pull-Untersuchungen“ oder auch „cortical-cup-Messungen“, die als Vorläufer der in-vivo Mikrodialyse betrachtet werden können, haben versucht, die extrazelluläre Umgebung im intakten Gehirn zu erfassen (Robinson & Justice, 1991; Ungerstedt, 1991). Als Beginn der in-vivo Mikrodialyse gilt eine Untersuchung von Bito et al. (1966), bei der Dialysesäckchen, gefüllt mit Dextran und Kochsalzlösung, in das subkutane Gewebe des Nackens und ins Parenchym der cerebralen Hemisphären von Hunden implantiert wurden. Zehn Wochen später wurden diese Säckchen wieder entfernt und auf ihren Aminosäuregehalt untersucht. Damit war die Idee geboren, eine künstliche Umgebung innerhalb eines Organismus zu schaffen, die, von einer Dialysemembran eingefasst, in ihrer Zusammensetzung der extrazellulären Umgebung gleicht. Veränderungen im chemischen Milieu des Extrazellulärraums sollten sich dann, durch den Prozess der Diffusion entlang eines Konzentrationsgradientens durch eine permeable Membran, in der veränderten Zusammensetzung dieser künstlichen Umgebung widerspiegeln. Delgado et al. (1972) entwickelten dann die sogenannte „Dialytrode“, die den heutigen Dialysesonden bereits sehr ähnlich war. Sie bestand aus zwei parallelen Metallröhrchen, die zusammen eine "push-pull-Kanüle" bildeten, an deren Ende jedoch ein kleines permeables Säckchen befestigt war. Aus der Beobachtung, dass DA in die Nähe von Blutgefäßen diffundiert, entwickelte Ungerstedt (1984) die erste Mikrodialysesonde, so wie sie in den hier beschriebenen Experimenten in abgewandelter Form benutzt wurde (Abb. 2).

Der Begriff der Dialyse stammt ursprünglich aus dem Griechischen und bedeutet soviel wie „auseinander-lösen“. Die grundlegende Idee der Mikrodialyse ist, die passive Funktion kapillarer Blutgefäße zu simulieren, indem man eine dünne tubuläre Membran ins Gewebe implantiert. Diese Membran wird dann mit einer isotonen Flüssigkeit durchspült, die in ihrer groben Zusammensetzung der des Extrazellulärraumes ähnlich ist. Man nimmt an, dass die Konzentration der einzelnen Bestandteile des Perfusats, d.h. der aus der Sonde wieder herausgepumpten Flüssigkeit, die Zusammensetzung des Extrazellulärraumes widerspiegelt (Ungerstedt, 1991; Di Chiara et al., 1996). Unter der Prämisse, dass kein osmotischer Druck und keine elektrischen Potentialdifferenzen existieren, geht man davon aus, dass der Transport zwischen den zwei Kompartimenten nur durch Diffusion entlang eines Konzentrationsgradienten bewirkt wird (Benveniste & Hansen, 1991). Durch die Isotonie der Flüssigkeiten im Extrazellulärraum und innerhalb der Dialysemembran kommt es nicht zu einem Netto-Fluss. Die Volumina beider Flüssigkeitskompartimente bleiben konstant. Die Parameter der Dialysemembran können zudem so gewählt werden, dass nur Moleküle bis zu einem bestimmten molekularen Gewicht hindurch diffundieren können. Damit kann die Matrix der später mittels HPLC-EC analysierten Probe relativ frei von Verunreinigungen gehalten werden, was eine sehr sensitive Analyse der Proben erlaubt (Zetterström et al., 1983; Cheng & Kou, 1995).

Durch verschiedene Modifikationen der Perfusionsflüssigkeit konnte der neuronale Ursprung des in den Mikrodialyseproben enthaltenen Neurotransmitters nachgewiesen werden. So wurde durch Zugabe des Na⁺-Kanal-Blockes Tetrodotoxin und durch eine Reduktion des Ca²⁺-Gehaltes in der Perfusionsflüssigkeit sowohl die Spannungs- als auch die Ca²⁺- Abhängigkeit der gemessenen DA- (Westerink et al., 1988; Westerink & De Vries, 1988; Arbuthnott et al., 1990) und 5-HT-Konzentrationen (Auerbach et al., 1989; Carboni & Di Chiara, 1989; Sharp et al., 1989a) nachgewiesen. Man geht deshalb davon aus, dass die basale Konzentration von DA und 5-HT von der Sequenz „Aktionspotential - terminale Depolarisation - Aktivierung spannungsabhängiger Na⁺-Kanäle - Aktivierung spannungsabhängiger Ca²⁺-Kanäle - Ca²⁺-Einstrom - Exozytose - Transmitterausschüttung in den Extrazellulärraum“ bestimmt wird (Di Chiara, 1990). Die Ausschüttung eines Transmitters hängt noch von vielen weiteren Faktoren, wie der Diffusion innerhalb des Extrazellulärraumes, der aktiven Wiederaufnahme oder

dem extrazellulären Metabolismus, ab. Obwohl man davon ausgeht, dass mittels in-vivo Mikrodialyse wirkliche Transmitterkonzentrationen im Extrazellulärraum gemessen werden, kann nicht davon ausgegangen werden, dass diese Konzentration genau der präsynaptischen Transmitterausschüttung entspricht (Westerink, 1995).

Die in-vivo Mikrodialyse, gekoppelt mit HPLC-EC, stellt im Gegensatz zu anderen in-vivo Methoden, wie z.B. der Voltametrie, eine Methode mit relativ geringer zeitlicher Auflösung dar (Ungerstedt, 1991; Westerink, 1995). Die zeitliche Auflösung von Mikrodialysmessungen liegt in der Regel im Bereich von mehreren Minuten. Die gemessene Transmitterkonzentration in einer Probe stellt dabei einen Mittelwert der extrazellulären Transmitterkonzentration über das jeweilige Messintervall dar. Durch die Verbindung von in-vivo Mikrodialyse mit HPLC-EC wird jedoch eine hohe Selektivität bezüglich der analysierten Substanzen und eine hohe Sensitivität bezüglich der messbaren Konzentrationen erreicht (Zetterström et al., 1983; Cheng & Koa, 1995). Die Dialysemembran, an der die Interaktion mit dem Extrazellulärraum stattfindet, ist zumeist mehrere Millimeter lang und hat einen Durchmesser von mehr als 200 μm . Damit ist der Dialysebereich um ein Vielfaches größer als z.B. ein synaptischer Spalt (Di Chiara, 1990). Die gemessene Transmitterkonzentration entspricht deshalb nicht nur einem zeitlichen Mittelwert, sondern auch einem räumlichen Mittelwert, der von der Aktivität einer Vielzahl einzelner Synapsen bzw. Varikositäten beeinflusst wird.

Bei der in-vivo Mikrodialyse handelt es sich um eine invasive Methode. Sowohl die Implantierung einer Führungskanüle als auch das Einführen der Dialysesonde ins ZNS kann vorübergehend zu funktionalen Schäden führen. Diese sind auf morphologischer Ebene durch Gliose, zerstörte und verletzte Neurone und Axone, bis zu 1400 μm vom Dialysetrakt entfernt, charakterisiert (Clapp-Lilly et al., 1999). Auf funktionaler Ebene kommt es vorübergehend zu einem erhöhten lokalen Glucosemetabolismus, einem reduzierten lokalen Blutfluss und zu einer gestörten Transmitterausschüttung (Benveniste et al., 1987; Benveniste & Hansen, 1991). Es konnte jedoch gezeigt werden, dass es innerhalb weniger Stunden zu einer funktionalen Erholung und zu einer Stabilisierung der extrazellulären Transmitterkonzentration kommt (z.B. Benveniste et al., 1987; Benveniste, 1989; Sharp et al., 1989b). Ludvig et al. (1994; Ludvig, 1997) konnten zudem bei Einzelzelleableitungen im Hippocampus zeigen, dass die funktionale Integrität von

Neuronen durch in-vivo Mikrodialyse im Abstand von 500 μm zur Messsonde nicht beeinträchtigt wird.

Eine wichtige Größe, die eine Mikrodialysemesung charakterisiert, ist die „Wiederfindungsrate“ (engl.: recovery). Unter der „Wiederfindungsrate“ versteht man das Verhältnis zwischen den Konzentrationen einer Substanz in der durch die Mikrodialyse gewonnenen Probe und einem Vergleichsmedium (Benveniste, 1989; Benveniste & Hansen, 1991). Die Wiederfindungsrate einer Mikrodialysemesung hängt von verschiedenen Parametern ab. So steigt die Wiederfindungsrate bei sinkender Perfusionsrate. Die Perfusionsrate (engl.: flow) ist definiert durch das Volumen der Flüssigkeit, das pro Zeit durch die Sonde gepumpt wird. Zudem ist die Wiederfindungsrate direkt proportional zur Größe und zum Porendurchmesser (engl.: cut off) der Membran. Wie jeder Diffusionsprozess, ist auch der durch eine Dialysemembran temperaturabhängig. Man nimmt an, dass der Diffusionskoeffizient pro Zentigrad Celsius um 1-2% ansteigt (Benveniste, 1989; Benveniste & Hansen 1991).

Nach Beendigung der in-vivo Mikrodialyse Messungen ist es erforderlich, die genaue Lokalisation der Mikrodialysesonden im Hirngewebe histologisch zu verifizieren. Tiere, bei denen die Sonden nicht in den vorgesehenen Hirnarealen lokalisiert sind, müssen von der weiteren Betrachtung generell ausgeschlossen werden.

Obwohl man versucht hat anhand der gemessenen Transmitterkonzentrationen, Schätzungen über die tatsächliche Konzentration im Extrazellulärraum zu machen, ist es aufgrund der komplexen Einflussfaktoren bisher nicht gelungen, eine Umrechnungsformel zu finden. Aus diesem Grund wird generell empfohlen, Mikrodialysedaten als Prozent der Basalwerte anzugeben und zu interpretieren (Westerink, 1995). Diese Vorgehensweise entspricht der wissenschaftlichen Praxis in der überwiegenden Zahl aller in-vivo Mikrodialysestudien (z.B. Di Chiara & Imperato, 1988; Bradberry et al., 1993; Parsons & Justice, 1993; Chen & Reith, 1994; Essman et al., 1994; Pontieri et al., 1995; Reith et al., 1997; Rutter et al., 1998). Um Prozentwerte sinnvoll interpretieren zu können, ist es jedoch erforderlich, dass die Ausgangslage der absoluten Transmitterkonzentrationen in den einzelnen Behandlungsgruppen vergleichbar sind.

In-vivo Mikrodialyse Messungen werden durchgeführt, um die Veränderungen in der extrazellulären Konzentration von Transmittern bzw. ihrer Metaboliten über die Zeit

am gleichen Organismus zu bestimmen. Die Technik eignet sich besonders, um die Wirkung bestimmter sensorischer oder pharmakologischer Stimuli auf die spontane Transmitteraktivität zu untersuchen. Dabei sind in der Regel zwei Fragen von Bedeutung: 1.) unterscheidet sich die Transmitterkonzentration nach der Behandlung von der Ausgangslage und 2.) unterscheiden sich die Transmitterkonzentrationen nach verschiedenen Behandlungen zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen bzw. im Vergleich zu einer Kontroll-Behandlung. Dies wird statistisch in der relevanten Literatur mittels Varianzanalyse (ANOVA) für wiederholte Messungen und entsprechenden *post hoc* Tests für multiple Vergleiche ausgewertet (z.B. Di Chiara & Imperato, 1988; Bradberry et al., 1993; Parsons & Justice, 1993; Chen & Reith, 1994; Essman et al., 1994; Pontieri et al., 1995; Reith et al., 1997; Rutter et al., 1998).

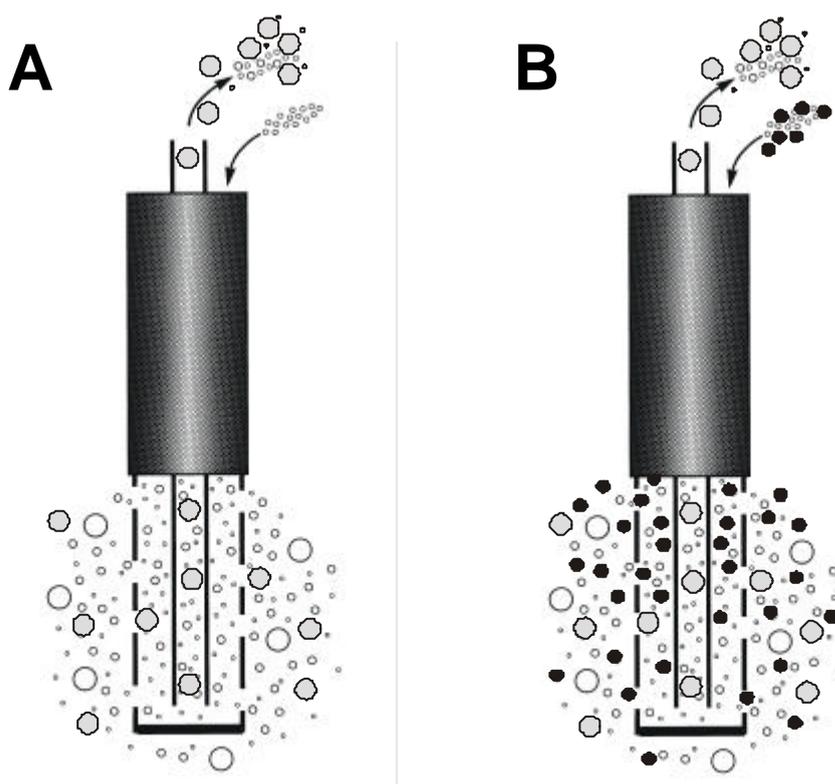


Abb. 2 Funktionsprinzip der in-vivo Mikrodialyse (A) und der reversen Dialyse (B). Dargestellt ist die aktive Fläche der Dialysemembran, an der die Diffusionsprozesse stattfinden. A.: Eine in-vivo Mikrodialysesonde zum Erfassen der extrazellulären Konzentration eines Neurotransmitters (graue Kreise) im Gewebe. B.: Eine in-vivo Mikrodialysesonde bei der reversen Dialyse. Wie bei A. kann der Neurotransmitter erfasst werden. Parallel dazu kann der Perfusionsflüssigkeit eine zu verabreichende Substanz (z.B. ein 5-HT-Rezeptor Ligand; schwarze Kreise) zugegeben werden, der bei Erreichen der aktiven Membranfläche ins Gewebe diffundiert.

Die in-vivo Mikrodialyse kann nicht nur zur Probengewinnung, sondern auch als lokale Applikationstechnik verwendet werden (reverse Dialyse; Abb. 2). Dabei kann die Messung der extrazellulären Transmitterkonzentration mit der Verabreichung einer Substanz in das entsprechende Hirngewebe kombiniert werden. Das Prinzip der Substanz-Verabreichung ist dabei dasselbe, wie das der Probengewinnung: die Diffusion entlang eines Konzentrationsgradienten. Bei der lokalen Verabreichung einer Substanz mittels reverser Dialyse wird die zu verabreichende Substanz in einer definierten Konzentration in der Perfusionsflüssigkeit gelöst und diffundiert dann, bei Erreichen der Dialysemembran, ins Hirngewebe. Die Vorteile dieser Anordnung sind, dass keine weitere Injektionskanüle ins Hirn implantiert werden muss und dass bei der Substanzverabreichung, im Gegensatz zur lokalen Injektion, kein Nettovolumen-Zufluss ins Gehirn stattfindet. Der Nachteil ist, dass man zwar die Konzentration der verabreichten Substanz in der Perfusionsflüssigkeit bestimmen kann, die wirkliche Gewebskonzentration kann, aufgrund der komplexen Einflussfaktoren bei der Diffusion, jedoch nur ungefähr angegeben werden.

2.1.2 Aufbau und Funktion einer Mikrodialysesonde

Eine der am häufigsten verwendeten Sondenformen in der in-vivo Mikrodialyse ist die konzentrische Parallellform, die auch in dieser Arbeit benutzt wurde (Abb. 2). Sie besteht aus einer zylinderförmigen Dialysemembran, die an einem Ende verschlossen und am anderen Ende in einen kleinen Metalltubus eingelassen ist. Diese Membran besteht aus organischen Polymeren, die das Passieren von Wasser und Molekülen mit einer Masse von < 6 kDa durch die Membran erlauben. Die Länge der Membran ist abhängig vom jeweiligen Dialysegebiet, in dem gemessen werden soll. Der Metalltubus hat dabei nicht nur stabilisierende Funktion, sondern ist mit seiner Festigkeit gegenüber der sehr empfindlichen Membran wichtig für die zielgenaue Lokalisation der Membran im Gewebe. An einem Ende ist der Metalltubus mit einem Polyethylen (PE)-Schlauch verbunden, durch den die Perfusionsflüssigkeit zur Membran gepumpt wird. An der Membran finden die oben beschriebenen Diffusionsprozesse statt. Nach dem Passieren der Dialysemembran wird die Perfusionsflüssigkeit mit dem darin enthaltenen Transmitter weitergepumpt und aufgefangen. Dies geschieht durch eine Kapillare, die auch als „fused silica“ bezeichnet wird, und die sich konzentrisch im Innenraum von Membran, Tubus und

PE-Schlauch befindet. Nach einigen Zentimetern verlässt diese Kapillare den PE-Schlauch und verläuft parallel zu ihm. Am Ende der Kapillare wird dann die Perfusionsflüssigkeit in Eppendorf-Gefäßen aufgefangen und bis zur chemischen Analyse aufbewahrt.

2.1.3 Das Prinzip der HPLC-EC

Die HPLC-EC stellt eines der selektivsten und sensitivsten Verfahren zur Trennung und Quantifizierung von Stoffgemischen dar. Dabei handelt es sich bei der HPLC um ein Trennverfahren und bei der EC um ein Verfahren zur Quantifizierung einzelner bereits bekannter Substanzen (Bidlingmeyer, 1992; Meyer, 1996). Bereits kurz nach Entwicklung der in-vivo Mikrodialyse Technik wurde die Kombination aus HPLC und EC zur Analyse der Dialyseproben eingesetzt (Zetterström et al., 1983) und mit fortschreitender Entwicklung kontinuierlich verfeinert (Cheng & Kou, 1995).

Unter Chromatographie versteht man prinzipiell die Auftrennung von Substanzgemischen in ihre Bestandteile aufgrund ihrer Verteilung zwischen zwei Phasen, die als mobile und stationäre Phase bezeichnet werden. Dabei spielt insbesondere bei der stationären Phase, die sich „stationär“ in einer Trennsäule befindet, Adsorption an den Grenzflächen eine entscheidende Rolle. Die bei der HPLC für monoaminerge Transmitter verwendete stationäre Phase besteht dabei aus Siliziumoxid-Kügelchen (Silica) definierter Größe (meist $<10 \mu\text{m}$). Bei der Phasenumkehr HPLC (engl: reversed phase HPLC) sind zudem die Silanol-Gruppen an der Oberfläche der Silica durch aliphatische Kohlenwasserstoffketten (z.B. C 18) substituiert. Die Phasenumkehr HPLC hat sich besonders für die HPLC monoamnierger Transmitter bewährt, da mit ihr kurze Analysezeiten erreicht werden können. Bei der Flüssigkeits-Chromatographie ist die mobile Phase, im Gegensatz zu anderen Chromatographie-Arten, eine Flüssigkeit. Die chromatographische Trennung beruht generell auf der unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit der in der mobilen Phase gelösten Probenbestandteile durch die stationäre Phase. Die Unterschiede in der Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen Substanzen sind durch die unterschiedliche Affinität der Probenbestandteile zur stationären Phase bedingt. Dadurch ergeben sich für jede Substanz unterschiedliche Retentionszeiten innerhalb der stationären Phase (Bidlingmeyer, 1992; Meyer, 1996). Nach der HPLC-

Trennung verlassen die Bestandteile der Probe in voneinander getrennten Banden, d.h. in Volumina der mobilen Phase, die nur noch eine einzige Substanz enthalten, die Trennsäule.

Die quantitative Analyse der einzelnen Probenbestandteile kann nun mittels EC in einer EC-Messzelle erfolgen. Bei der EC macht man sich die Position der einzelnen Substanzen in der elektrochemischen Spannungsreihe zunutze, die bei Anlegen einer Spannung entweder Elektronen abgeben (Oxidation) oder Elektronen aufnehmen (Reduktion). Dabei ist die Zahl der frei werdenden Elektronen und damit der zu messende Stromfluss bei einer definierten Spannung proportional zur Menge der Substanz. Die Veränderungen im Stromfluss an einer Elektrode gegenüber einer Referenz lassen sich abgreifen und werden in einem Integrator als Kurven, die auch als „Peaks“ bezeichnet werden, aufgezeichnet. Mittels dieser Kurven kann man Aussagen darüber machen, wie lange und mit welcher Intensität der Stromfluss an der Elektrode von der Ausgangslinie abweicht. Die Fläche unter einer solchen Kurve ist dabei proportional zur Menge der oxidierten bzw. reduzierten Substanz.

Sowohl für die Identifizierung einer bestimmten Substanz als auch für deren Quantifizierung ist es notwendig, vorher einen externen Standard mit definierten Substanzen und Substanzmengen zu analysieren. Dabei erfasst man im externen Standard zum einen die Retentionszeiten der einzelnen Substanzen, die später der Identifizierung der Zielsubstanzen dienen, und zum anderen, welche Fläche unter einer Kurve der definierten Substanzmenge entspricht. Später, während der Analyse der Proben, kann man dann mittels der gemessenen Kurvenflächen Rückschlüsse auf die Menge der in der Probe enthaltenen Substanzen ziehen (Bidlingmeyer, 1992; Meyer, 1996).

Um Sensitivitätsverluste während der HPLC-EC Messungen kontrollieren zu können, wird neben dem externen Standard noch ein interner Standard verwendet. Dabei handelt es sich um eine Substanz, die 1.) nicht in der Probe vorkommt (d.h. eine nicht-physiologische Substanz), die 2.) gut wasserlöslich ist, die 3.) eine andere Retentionszeit als alle anderen in der Probe vorkommenden Substanzen aufweist, und die 4.) bei einem ähnlichen Potential oxidierbar ist, wie die Zielsubstanzen. Der interne Standard wird für die HPLC-EC Analyse in gleicher Konzentration sowohl dem externen Standard als auch der Probe zugegeben. Bei gleichbleibender Sensitivität der Messungen ergibt die Analyse des internen Standards stets dieselbe Kurvenfläche. Kommt es zu einer Verringerung der Sensitivität, so verringert sich

auch die Kurvenfläche des internen Standards. Aus dem Verhältnis der Kurvenflächen des internen Standards zu Beginn der Messungen zum jeweils aktuellen Wert kann dann ein Korrekturfaktor errechnet werden, der in die Berechnung der Konzentrationen der Zielsubstanzen mit einfließt.

2.1.4 Die Verhaltensmessung

Eine Verbesserung der in-vivo Mikrodialyse Technik erlaubt es, parallel zur Transmitterkonzentration in einzelnen Hirngebieten, auch die Verhaltensaktivität nach pharmakologischer Behandlung zu messen. Bezüglich des Verhaltens befasst sich diese Arbeit mit den akuten Verhaltenseffekten nach pharmakologischer Behandlung. Im Gegensatz zu komplexeren Verhaltenstests, sollte hierbei der Einfluss verschiedener pharmakologischer Behandlungen auf spontane Verhaltensweisen, wie Lokomotion, Aufrichtverhalten und Putzverhalten, gemessen werden. Dazu wurde in allen hier beschriebenen Experimenten eine Aktivitätsbox verwendet. Um durch Habituation und „Händeln“ bedingte Erhöhungen der spontanen Aktivität (Welker, 1959; Thiel et al., 1998a, 1999) zu kontrollieren, wurden alle Tiere mindestens 5 Tage lang vor Beginn des Experiments „gehändelt“, d.h. an die Hand des Versuchsleiters gewöhnt, und mindestens 2-3 Stunden vor Beginn der Verhaltensmessungen in die Aktivitätsbox gesetzt. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass sowohl die durch Habituation bedingte Erhöhung der lokomotorischen Aktivität als auch die neurochemische Antwort auf „Neuheit“ nach 2 Stunden wieder auf dem Niveau der Ausgangslage sind (Thiel et al., 1998a, 1998b). Demnach konnte man davon ausgehen, dass zu Beginn der Verhaltensmessungen alle Tiere an die Aktivitätsbox habituiert waren. Während der gesamten Messzeit wurde die Verhaltensaktivität von jedem Tier über eine Videokamera aufgenommen und später in anonymisierter Form ausgewertet. Das dabei ausgewertete Verhalten kann in folgende Verhaltensparameter unterteilt werden:

- 1.) *Lokomotion*: Dabei wurde die horizontale lokomotorische Aktivität ausgewertet. Zur Erfassung der Lokomotion wurde die quadratische Grundfläche der Aktivitätsbox in vier virtuelle Quadranten gleicher Größe unterteilt. Als lokomotorische Aktivität wurde die Zahl der Übertritte von einem

Quadranten in einen anderen gezählt. Als Übertritt galt dabei das Verlassen eines Quadranten mit allen vier Pfoten.

- 2.) *Aufrichtverhalten*: Als Aufrichtverhalten wurde das Aufstellen des Tieres auf seine Hinterpfoten (Anzahl) und die Zeit des Verharrens in dieser Position erfasst. Aufrichtverhalten kann sowohl am Rande der Aktivitätsbox mit Kontakt der Vorderpfoten zur Wand als auch in der Mitte der Box, d. h. ohne Kontakt der Pfoten zur Wand, erfolgen. Das Aufrichten eines Tieres wurde nicht als Aufrichtverhalten gewertet, wenn es an der Trinkflasche mit nachfolgendem Trinkverhalten erfolgte.
- 3.) *Putzverhalten*: Als Putzverhalten wurde die Zeit erfasst, in der sich das Tier putzt. Unter Putzen wurden folgende Verhaltenssequenzen gewertet: mit den Pfoten über das Fell, Gesicht oder die Vibrissen streichen, sich Kratzen und das Fell ablecken.

Alle Verhaltensparameter wurden zunächst als Mittelwerte über die einzelnen Messintervalle (Experiment I: 20 Minuten; Experimente II-IV: 30 Minuten) ausgewertet. Um jedoch den genauen Beginn bzw. das Ende der Verhaltenseffekte genauer bestimmen zu können, wurden das Intervall nach der ersten bzw. die zwei Intervalle nach der zweiten i.p. Injektion zusätzlich in Blöcken von 5 Minuten ausgewertet.

Um die Einflüsse von Störgeräuschen und olfactorischen Stimuli aus der Laborumgebung zu minimieren, befand sich die Aktivitätsbox in einer geräuschisolierten Kammer, die neben der verschließbaren Fronttür lediglich eine kleine Öffnung in der Decke (für die Mikrodialyseschläuche) aufwies. Die Kammer wurde permanent belüftet und durch eine Lampe schwach beleuchtet.

2.2 Praktischer Teil

In diesem Abschnitt soll die praktische Durchführung der in-vivo Mikrodialyse Experimente an frei beweglichen Ratten in den Teilen beschrieben werden, die bei allen durchgeführten Experimenten identisch waren. Abweichungen und Ergänzungen dazu finden sich in den „Speziellen Methoden“ der einzelnen Experimente.

2.2.1 Die Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelte es sich um adulte männliche Wistar-Ratten, die aus der Tierversuchsanlage der Universität Düsseldorf bezogen wurden. Das Gewicht der Ratten betrug zu Beginn der Experimente zwischen 230 und 370 Gramm. Bis zum Beginn der Versuche wurden die Tiere im Tiervorbereitungsraum des Institutes in Einzelkäfigen (Makrolon, 40 x 24 x 15 cm) bei normalem 12/12 Stunden hell-dunkel-Rhythmus und freiem Zugang zu Futter (Altromin-Pressfutter) und Wasser gehalten.

2.2.2 Versuchsvorbereitung I: Die stereotaktische Operation

Um akute Gewebsverletzungen durch das Einsetzen der Mikrodialysesonden so gering wie möglich zu halten, wurden den Ratten 5-7 Tage vor Beginn der Messungen unter Anästhesie in einer stereotaktischen Operation jeweils zwei Führungskanülen implantiert (Boix et al., 1994). Die Lokalisation der Führungskanülen wurde so gewählt, dass sie direkt über den relevanten Hirnstrukturen, dem Nac (Experiment II-IV) und dem Hippocampus (Experiment II-IV) endeten. Die genauen Koordinaten mit Bregma als Referenzpunkt wurden aus Paxinos & Watson (1986) entnommen. Da den Tieren nach der Operation zwischen 5 und 7 Tage Zeit zum Erholen gelassen wurde, konnte davon ausgegangen werden, dass es am Messtag keine oder nur minimale funktionale Defizite in den umliegenden Hirngebieten oder Verletzungen der Blut-Hirn-Schranke geben würde (Benveniste et al., 1987; Benveniste, 1989).

Für die stereotaktische Operation wurden die Ratten mit einer Mischung aus 0.9 ml/kg Ketavet (mit einer Konzentration von: 100 mg/ml Ketamine; Pharmacia & Upjohn, Deutschland) und 0.4 ml/kg Rompun (mit einer Konzentration von: 20 mg/ml

Xylazin; Bayer, Deutschland) i.p. anästhesiert. Das Fell der Kopfhaut wurde rasiert und mit 95 %igem Ethylalkohol desinfiziert. Während der Operation wurde der Kopf des Tieres in einen Stereotakten (Kopf, USA) eingespannt, wobei vor und während der Operation die Tiefe der Anästhesie durch die Kontrolle von Schmerzreflexen (Schwanzkneifen, Korneal-Reflex) überwacht wurde. Da das Anästhetikum den Temperaturhaushalt der Tiere beeinflusst, wurde die Körpertemperatur während der Operation durch ein Wärmekissen (Fine Science Tools, USA) konstant gehalten. Das Operationsgebiet wurde dann durch eine s.c. Injektion mit 0.1 ml Lidocain (Hexal, Deutschland) nochmals lokal betäubt. Die Schädeldecke wurde durch Entfernung der Kopfhaut frei gelegt, so dass der Referenzpunkt Bregma sicher zu identifizieren war. Um die Führungskanülen zu implantieren und am Schädelknochen zu fixieren, war es erforderlich, mittels eines Mikroantrieb lokalisierbaren Dentalbohrers insgesamt vier Löcher durch die Schädeldecke zu bohren. In zwei dieser Löcher wurden Juwelierschrauben (Edelstahl, d=1.4 mm) fixiert. Durch die anderen beiden Löcher wurde jeweils eine Führungskanüle (Werkstatt der Psychologischen Institute; Boix et al., 1994) abgesenkt und mittels Paladur-Dentalzement (Heraeus, Deutschland) mit den Schrauben und dem angrenzenden Fell der Kopfhaut fixiert. Im letzten Schritt wurden die Führungskanülen mit einer als Dummy fungierenden Stahlkanüle verschlossen. Dem Tier wurde dann noch ein Plastikhalsband zur späteren Befestigung eines Zugentlastungsdrahtes umgelegt.

Nach dem Aufwachen aus der Anästhesie wurden die Tiere wieder in den Tiervorbereitungsraum gebracht. An den darauf folgenden 5-7 Tagen wurden die Tiere jeweils für 10-15 Minuten „gehändelt“ (d.h. Tier in die Hand und auf den Arm nehmen). Bereits nach 1-2 Tagen zeigten alle Tiere wieder normale exploratorische Aktivität.

2.2.3 Versuchsvorbereitung II: Die Herstellung der Mikrodialysesonden

Die Herstellung der Mikrodialysesonden folgte der von Boix et al. (1994) beschriebenen Prozedur. Im ersten Schritt wurde die Dialysemembran (regenerierte Zellulose, Cuprophan, cut off: 6 kDa, Akzo, Deutschland) auf eine Länge von 8.4 mm (für Nac-Sonden) oder 9.4 mm (für Hippocampus-Sonden) unter dem Mikroskop zugeschnitten. Metalltubuli (Edelstahl, d=0.45 mm) wurden auf eine Länge von ungefähr 2.5 cm zugeschnitten und die Schnittkanten wurden mit feinem Sandpapier

geglättet. Danach wurden die Metalltubuli in Aceton im Ultraschallbad für 15 Minuten gereinigt, getrocknet und auf einwandfreie Durchlässigkeit geprüft. Wenn dies der Fall war, konnte die zugeschnittene Dialysemembran so eingesetzt werden, dass sie 5 mm ins Innere des Metalltubus reicht. Mittels Epoxy-Klebers wurde die Membran dann am Metalltubus fixiert (Länge der Klebestelle: ungefähr 0.2 mm). Nach etwa 5 Stunden Aushärtezeit wurde die Klebestelle nochmals sicherheitsverklebt. Zudem wurde die vom Metalltubus wegzeigende Spitze der Membran mit Epoxy-Kleber verschlossen. Dabei wurde die Länge der unverklebten Membran auf 2 mm (Experiment I) oder 3 mm (Experiment II-IV) für den Nac bzw. 4 mm für den Hippocampus justiert. Parallel zur Vorbereitung der Sondenspitze konnte die Vorbereitung des Schlauchsystems erfolgen. Dazu wurde die Silica-Kapillare (fused silica, TSP075150, CIL, Frankreich) auf eine Länge von etwa 85 cm, die des großen PE-Schlauches ($d_A=1.56$ mm; Microline) auf 80 cm und die des kleinen PE-Schlauches ($d_A=0.6$ mm; neoLab) auf 70 cm zugeschnitten. Mittels einer Injektionskanüle wurde die Silica-Kapillare etwa 10 cm vom Ende entfernt in den großen PE-Schlauch eingestochen und durchgezogen, bis sie am kurzen Ende etwa 2.5 cm übersand. Auf die nach außen stehende Silica-Kapillare wurde nun der kleine PE-Schlauch aufgezogen. Die Einstichstelle der Silica-Kapillare in den großen PE-Schlauch und der aufsitzende kleine PE-Schlauch wurden dann mit Epoxy-Kleber wasserdicht verklebt. Nach etwa 5 Stunden wurden die Klebestelle und der kleine PE-Schlauch mit Gewebepband zusätzlich fixiert. Eine Verschraubung und ein Aluminiumstopper (Werkstatt der Psychologischen Institute; Boix et al., 1994) wurden aufgesetzt. Im nächsten Arbeitsschritt wurde die vorbereitete Sondenspitze auf die am großen PE-Schlauch überstehende Silica-Kapillare aufgesteckt und ebenfalls mit Epoxy-Kleber am großen PE-Schlauch fixiert. Nach weiteren 5 Stunden wurde im letzten Arbeitsschritt der Aluminiumstopper so abgesenkt und mit Sekundenkleber (Uhu, Deutschland) fixiert, dass die Länge des Metalltubus genau der Länge eines Führungskanülenschaftes entspricht. Die fertiggestellten Dialysesonden müssen bis zur Verwendung vor Nässe und Staub geschützt aufbewahrt werden. Bevor eine Dialyse sonde für in-vivo Messungen verwendet werden kann, muss sie gründlich auf ihre Funktionsfähigkeit geprüft werden. Die prinzipielle Durchlässigkeit des Schlauchsystems wird geprüft, indem man mit einer Spritze Luft durch die Sonde drückt. Unmittelbar vor Einsetzen der Dialysesonden werden zudem noch Verletzungen der Dialysemembran ausgeschlossen, indem man die Sonde mit einer

Ringer-Lösung durchspült und auf unerwünschte Flüssigkeitsaustritte an der Dialysemembran oder an den Klebestellen untersucht. Wenn Durchfluss und Dichtheit der Dialysesonde gewährleistet sind, kann diese unmittelbar für in-vivo Mikrodialyse Messungen verwendet werden.

2.2.4 Versuchsvorbereitung III: Die HPLC-EC

Um die Mikrodialyse Proben möglichst ohne Zeitverlust analysieren zu können, muss die HPLC-EC bei Beginn der Messungen einwandfrei arbeiten. Für die HPLC-EC Analyse der Proben wurde ein „intro“ Detektor mit einer VT-03 Messzelle (Antec, Niederlande) benutzt. Als Arbeitselektrode diente eine Platin-Elektrode und als Referenz eine Ag/AgCl-Elektrode. Das verwendete Zellpotential betrug 700 mV bei einer Signalverstärkung von 2-5 nA/V und einer Filtereinstellung von 5 Sekunden.

2.2.4.1 Die HPLC-EC von Dopamin

Für die HPLC-EC Analyse von DA wurde als Trennsäule eine ET 125/4, Nucleosil 100-5, C-18 (reversed phase) Säule (Macherey & Nagel, Deutschland) und eine mobile Phase bestehend aus 0.15 M Chloressigsäure, 0.12 M NaOH, 0.67 mM EDTA, 0.86 mM Natrium-Octylsulfat, 3.5% Acetonitril und 1.8% Tetrahydrofuran, adjustiert auf pH=3.0, verwendet (Boix et al., 1995). Der Pumpenfluss betrug dabei 1.0 ml/min. Diese Applikation erlaubte die Messung von DA und des DA-Metaboliten 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure (DOPAC) mit einer Sensitivität von 0.5 pg für DA und 1 pg für DOPAC bei einem Signal-Rauschen-Verhältnis von 2:1 (Boix et al., 1995; De Souza et al., 1997). Vor Beginn jeder Probenanalyse musste die HPLC-EC kalibriert werden. Dies geschah mit einem Standard aus DA (30 pg), 5-HT (30 pg), 3,4-Dihydroxybenzylamin (DHBA; interner Standard), DOPAC, 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA), Hydroxyvanillinsäure (HVA) und L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA; jeweils: 2000 pg) gelöst in 0.05 M HClO₄.

2.2.4.2 Die HPLC-EC von Serotonin

Für die HPLC-EC Analyse von 5-HT wurde als Trennsäule eine ET 125/2, Nucleosil 120-5, C-18 (reversed phase) Säule (Macherey & Nagel, Deutschland) und eine mobile Phase bestehend aus 0.15 M NaH₂PO₄ · 2H₂O, 1.0 mM EDTA, 0.8 mM

Natrium-Octylsulfat, 17 mM Diethylamin und 15% Methanol, adjustiert mit H_3PO_4 auf $\text{pH}=3.5$, verwendet (Marsden & Joseph, 1986; Rex et al., 1993). Der Pumpenfluss betrug dabei 0.3 ml/min bei kontinuierlicher Entgasung der mobilen Phase. Sowohl HPLC-Trennsäule als auch EC-Zelle wurden konstant auf 30°C gehalten. Diese Applikation erlaubte die Messung von 5-HT, des 5-HT-Metaboliten 5-HIAA und von DOPAC mit einer Sensitivität von 0.5 pg für 5-HT und 2 pg für 5-HIAA und DOPAC bei einem Signal-Rauschen-Verhältnis von 2:1 (Rex et al., 1993). Die Kalibration der HPLC-EC vor jeder Probenanalyse wurde mit einem Standard aus 5-HT (30 pg), Deoxyadrenalin (DEA; interner Standard), DOPAC, 5-HIAA, HVA und 3-Methoxytyramin (3-MT, jeweils: 2000 pg) gelöst in 0.05 M HClO_4 durchgeführt.

2.2.4.3 Inbetriebnahme und Instandhaltung der HPLC-EC

Vor Inbetriebnahme und danach im Abstand von etwa einem Monat musste die HPLC mittels HNO_3 und Acetonitril gereinigt werden (für eine Beschreibung der Prozedur: siehe Anhang). Die Säuberung der EC erfolgte in der Regel im Abstand von zwei Wochen durch Ultraschallreinigung im Aceton-Bad. Die Referenzelektrode musste im gleichen Zeitraum mit KCl (DA-Analyse) bzw. LiCl (5-HT-Analyse) nachgefüllt werden, um die Übersättigung der Ag/AgCl-Referenzelektrode zu gewährleisten.

2.2.5 Die Versuchsanordnung

Alle hier beschriebenen Experimente wurden in einer nach oben offenen Aktivitätsbox aus Plexiglas (29 x 29 x 30 cm) durchgeführt, die sich in einer Geräuschisolierkammer (110 x 70 x 70 cm) befand (Abb. 3). Die Kammer konnte durch eine Tür verschlossen werden. Lediglich in der Decke der Kammer befand sich eine Öffnung ($d=5$ cm) für die nach außen ziehenden Dialyseschläuche und den Zugausgleichsdraht. Innerhalb der Versuchsanordnung herrschte ein normaler 12/12 Stunden hell-dunkel Rhythmus bei einer Helligkeit von 60 Lux (Hell-Phase) und eine Temperatur von $21-23^\circ\text{C}$. Alle Experimente fanden während der Hell-Phase statt. Die Tiere hatten vor und während der Messungen freien Zugang zu Futter und Wasser. Im Inneren der Kammer befand sich zudem eine Videokamera, die mit einem Videorekorder und einem Fernseher außerhalb der Kammer verbunden war. Mit

dieser Anordnung war das Aufzeichnen der Verhaltensaktivität bei geschlossener Kammer möglich.

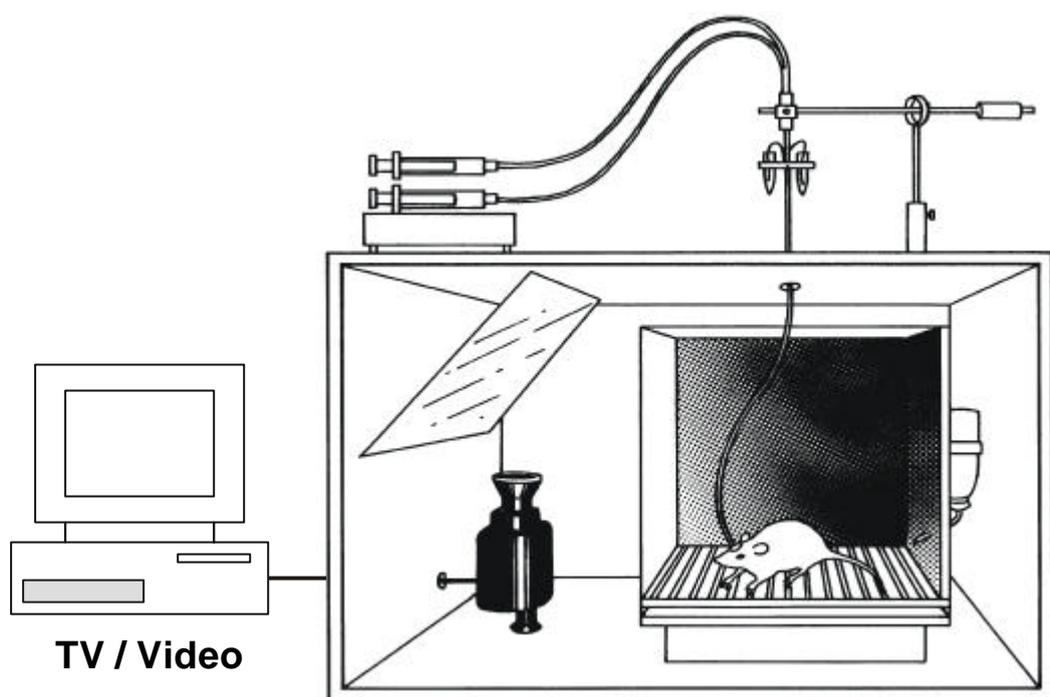


Abb. 3 Versuchsapparatur für die in-vivo Mikrodialyse an der frei beweglichen Ratte

2.2.6 Das Versuchsprotokoll

Fünf bis sieben Tage nach der stereotaktischen Operation fand für jedes Tier die in-vivo Mikrodialyse Messung statt. Aufgrund des hohen technischen Aufwandes der Messungen konnte immer nur ein Tier pro Tag bzw. 3-4 Tiere pro Woche untersucht werden. Das Einsetzen der Tiere in die Aktivitätsbox erfolgte für die Messung von DA am Nachmittag vor dem Versuchstag, um dem Versuchstier nach Einsetzen der Dialysesonden eine möglichst lange Erholungszeit zu ermöglichen. Für die Messung von 5-HT fiel in Vorversuchen die Ausgangslage der 5-HT-Konzentration über Nacht zum Teil unter das Detektionslimit ab. Aus diesem Grund wurden den Tieren für die Messung von 5-HT die Dialysesonden erst am Morgen des Versuchstages eingesetzt (siehe auch: Chen & Reith, 1995; Casanovas & Artigas, 1996; McQuade & Sharp, 1997; De Souza et al., 1997). Nach Überprüfung der Funktionsfähigkeit der Mikrodialysesonden (siehe: 2.2.3.) und dem Entfernen der Dummies aus den

Führungskanülen, wurden Dialysesonden in die jeweils zwei Führungskanülen eingesetzt. Das Tier wurde dann in die Aktivitätsbox gesetzt. Als nächstes wurde ein Führungsdraht, der durch die Öffnung in der Kammerdecke mit einem Zugausgleichsarm auf der Kammer verbunden ist, am Halsband des Tieres befestigt. Die Dialyseschläuche wurden dann durch die Öffnung nach außen geführt und mit einem 2-Kanal-Drehventil verbunden. Unmittelbar nach Herstellen der Verbindung, begann die Perfusion der Dialysesonden mit Ringer-Lösung (Na^+ 147 mM, K^+ 4 mM, Ca^{2+} 2.2 mM, Cl^- 156 mM, $\text{pH}=7.4$) durch eine Mikrodialysepumpe (CMA 100, Carnegie, Schweden). Die Perfusionsgeschwindigkeit betrug bei der Messung von DA 2.0 $\mu\text{l}/\text{min}$ (über Nacht: 0.5 $\mu\text{l}/\text{min}$) und bei der Messung von 5-HT 1.5 $\mu\text{l}/\text{min}$. Um eine stabile Ausgangslage der Transmitterkonzentration zu erhalten und um den Tieren eine Verhaltenshabituation an die Aktivitätsbox zu ermöglichen, wurde nach Beginn der Perfusion 2-3 Stunden bis zum Beginn der Messungen gewartet. Danach wurde die Verhaltensaktivität über die gesamte Messzeit auf Video aufgenommen. Um genügend Substanz für die HPLC-EC Analyse zur Verfügung zu haben, musste jeweils über Intervalle von 20 Minuten für DA bzw. 30 Minuten für 5-HT das Perfusat gesammelt werden. Das Perfusat wurde in Eppendorf-Gefäßen am 2-Kanal-Drehventil aufgefangen. In den Eppendorf-Gefäßen befand sich dabei 5 μl interner Standard gelöst in 0.1 M HClO_4 , das als Antioxidans diente. Unmittelbar nach Entnahme einer Dialyseprobe wurde diese mittels HPLC-EC hinsichtlich der Konzentration vorhandener Transmitter bzw. Metaboliten untersucht. Kam es zu unerwarteten Ausfällen der HPLC-EC während eines Messtages bzw. zu nicht tolerablen Sensitivitätsverlusten, mussten alle unmittelbar gewonnenen Proben bis zur späteren Analyse eingefroren und bei -80°C aufbewahrt werden.

Bei der Messung von DA wurden nach 5 Ausgangslage-Proben 2 pharmakologische Behandlungen, durch ein Dialyseintervall voneinander getrennt, verabreicht. Danach wurde noch 12 Dialyseintervalle lang, d.h. für 240 Minuten, gemessen. Eine so lange Messzeit nach pharmakologischer Behandlung lag in den zu erwartenden Effekten der Behandlungen auf die extrazelluläre Metaboliten-Konzentration begründet. Bei der Messung von 5-HT wurden nach 3 Ausgangslage-Proben ebenfalls 2 pharmakologische Behandlungen, durch ein Dialyseintervall voneinander getrennt, verabreicht. Danach wurde noch 8 Dialyseintervalle lang, d.h. ebenfalls für 240 Minuten, gemessen.

Nach Beendigung der Messungen musste die Lokalisation der Dialysesonden verifiziert werden. Dazu wurde jedes Tier durch eine i.p. Injektion mit 0.5 ml Nembutal (mit einer Konzentration von: 60 mg/ml Pentobarbital; Sanofi, Frankreich) letal anästhesiert und transcardial perfundiert. Dies geschah durch Öffnen der Bauchhöhle und Durchtrennung der Rippenbögen. Das Herz wurde frei präpariert und eine Kanüle in die linke Herzkammer eingeführt. Die absteigende Aorta wurde abgeklemmt. Die eingeführte Kanüle war über ein Verteilerventil mit einem Behälter physiologischer Kochsalzlösung und einem Behälter 4%iger phosphatgepufferter Formalin-Lösung verbunden. Der Perfusionsfluss wurde zuerst auf Kochsalz gestellt und das rechte Atrium wurde durch einen Einschnitt geöffnet. Nachdem das Tier mit etwa 0.5 l Kochsalzlösung transcardial perfundiert war, wurde das Ventil auf Formalin umgestellt und nochmals mit 0.5 l Formalin-Lösung perfundiert. Nach Dekapitierung und Entfernung des Implantats wurde der Schädel geöffnet und das Gehirn entnommen. Um das Gehirn für die histologische Untersuchung zu präparieren, wurde es in einer 4%igen phosphatgepufferten Formalin-Lösung (siehe Anhang) bei 4°C für mindestens 1 Woche gelagert.

2.2.7 Histologie

Für die histologische Untersuchung der Dialysekanäle wurden die Gehirne nach ausreichender Fixierung in Formalin-Lösung mittels eines Kryotoms bei -20 °C in 50 µm dicke Koronalschnitte geschnitten. Die Schnitte wurden direkt auf gelatinisierte Objektträger (siehe Anhang) aufgebracht und luftgetrocknet. Nach mindestens einem Tag Trockenzeit wurden die Schnitte mittels Kresylviolett gefärbt (Protokolle: siehe Anhang) und mit DePeX (Serva, Deutschland) dauerhaft fixiert. Nach einer mindestens dreiwöchigen Trockenzeit wurde unter dem Mikroskop und unter Zuhilfenahme eines stereotaktischen Atlanten (Paxinos & Watson, 1986), die Lokalisation der Dialysesonden rekonstruiert. Nur Tiere mit Lokalisation der Dialysesonden innerhalb der vorgesehenen Hirnstrukturen wurden bei der weiteren Auswertung berücksichtigt.

2.2.8 Auswertung und Statistik

Die Datendarstellung der Ergebnisse erfolgt in allen Experimenten deskriptiv anhand von Mittelwerten und Standardfehlern.

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mittels Statistica 4.0. Um die Vergleichbarkeit der hier gewonnenen Daten mit anderen Ergebnissen aus der in-vivo Mikrodialyse Literatur zu gewährleisten, wurden alle neurochemischen Daten als Prozent der Ausgangslagewerte, deren Mittelwert als 100% angesehen wurde, dargestellt und ausgewertet. Unter der Annahme einer relativen Robustheit der ANOVA wurden ANOVAs für wiederholte Messungen sowohl für die neurochemischen als auch für die Verhaltensdaten berechnet. ANOVAs wurden zum einen gerechnet, um die Effekte der Behandlung innerhalb einer Gruppe, aber auch im Vergleich zu anderen Gruppen zu testen. Als Behandlung wurde in allen Experimenten die jeweilige Kombination aus den beiden applizierten Drogen angesehen. Im ersten Schritt wurde innerhalb einer Gruppe eine einfaktorielle ANOVA für wiederholte Messungen mit dem Faktor „Probenintervalle“ über 18 (Experiment I) bzw. 12 Faktorstufen (Experiment II-IV) gerechnet. Für die *post hoc* Analyse wurde der Tukey's-HSD-Test (Tukey's honest significant difference test) gerechnet (Ramsey, 1993), wobei die Werte nach der Behandlung mit dem letzten Basalwert (Experiment I: P5; Experiment II-IV: P3) verglichen wurden (Thiel, 1999). Im zweiten Schritt wurde eine zweifaktorielle ANOVA für wiederholte Messungen mit den Faktoren „Probenintervalle“ und „Behandlungen“ (Experiment I-III: 4 Faktorstufen, Experiment IV: 8 Faktorstufen) gerechnet. In der *post hoc* Analyse der Effekte wurden mittels Tukey's-HSD-Test die Werte eines entsprechenden Probenintervalls zwischen den Behandlungs-Gruppen verglichen. Alle p-Wert wurden generell als Maß des Effekts interpretiert. Aus diesem Grund wird der Begriff „*signifikant*“ bei der Interpretation der statistischen Ergebnisse nicht verwendet.

3 Experimente

3.1 Experiment I

3.1.1 Einleitung

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass die lokomotorischen Effekte einer systemischen Kokain-Injektion durch lokale Injektion von Kokain in den Nac nachgeahmt werden können (Kelly & Iversen, 1976; Delfs et al., 1990; Ikemoto, 2002). Innerhalb des Nac galt lange die dopaminerge Innervierung für die Verhaltenseffekte von Kokain verantwortlich (siehe 1.1.5.). Die pharmakologische Untersuchung der Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei den Verhaltenseffekten von Kokain war lange Zeit durch das Fehlen eines hinreichend selektiven 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonisten erschwert (Routledge, 1996). Mit WAY100635 wurde erstmals ein hoch potenter, selektiver und stiller 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonist beschrieben (Forster et al., 1995; Fletcher et al., 1996). In nachfolgenden Studien wurde gezeigt, dass die selektive pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors mit WAY100635 akute Kokain-induzierte Hyperaktivität inhibieren kann (Carey et al., 2000, 2001). Die systemische Applikation von WAY100635 allein führte zudem zu einem Anstieg des Putzverhaltens, konnte jedoch die Kokain-induzierte Inhibierung von Putzverhalten nicht aufheben (Carey et al., 2001). Der neurochemische Mechanismus, der diesen Verhaltenseffekten zugrunde lag, war bisher unklar und sollte in diesem Experiment untersucht werden. Aufgrund der bisher bekannten neurochemischen Effekte von Kokain sollten zunächst der zeitliche Verlauf der extrazellulären DA- und DOPAC- Konzentration im Nac parallel zur Verhaltensaktivität nach systemischer Gabe des 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonisten WAY100635 und Kokain untersucht werden. Dabei wurde einerseits eine WAY100635-induzierte Inhibierung akuter Kokain-induzierter Hyperaktivität als Replikation der Befunde von Carey et al. (2000, 2001) erwartet. Auf neurochemischer Seite wurde andererseits eine veränderte DA- und DOPAC-Antwort im Nac nach WAY100635 und Kokain vermutet.

3.1.2 Spezielle Methoden

Eine Woche vor Beginn der in-vivo Mikrodialyse Messungen wurden jedem Tier zwei Führungskanülen in einem Winkel von +/- 10° in den Nac (rechts und links) implantiert. Die Koordinaten waren: anterior: +1.2 mm, lateral: +/- 3.0 mm, ventral: -6.0 mm (Referenz: Bregma, Paxinos & Watson, 1986). Die Dialysesonden wurden in Experiment I bereits am Nachmittag vor dem Messtag bilateral in den Nac eingesetzt. Am Messtag wurde zunächst der Perfusionsfluss auf 2.0 µl/min gestellt und weitere 2 Stunden gewartet. Während des Experiments erfolgte die Probennahme alle 20 Minuten (Probenintervall). Zunächst wurden 5 Ausgangslage-Proben genommen. Dem folgte eine i.p. Injektion mit entweder 0.4 mg/kg WAY100635 (N-{2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl}-N-(2-pyridinyl) cyclohexane-carboxamide trihydrochloride; Research Biochemicals, USA) oder 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline). Nach einem weiteren Probenintervall erhielt jedes Tier eine weitere i.p. Injektion mit entweder 10 mg/kg Kokain (Merck, Deutschland) oder Saline. Die verwendeten Konzentrationen WAY100635 und Kokain wurden den Arbeiten von Carey et al. (2000, 2001) entnommen. Sowohl WAY100635 als auch Kokain wurden für die i.p. Applikation in Saline gelöst. Alle Injektionen wurden in einem Volumen von 1 ml/kg i.p. verabreicht. Nach der zweiten i.p. Injektion wurde noch 12 Intervalle lang, d.h. für 240 Minuten, gemessen. Alle Mikrodialyseproben wurden mittels HPLC-EC auf ihren Gehalt an DA und DOPAC untersucht. Da keine Unterschiede zwischen linkem und rechtem Nac in der neurochemischen Antwort auf die pharmakologische Behandlung erwartet wurden, sollten die Ergebnisse für DA und DOPAC jeweils für die Analyse gepoolt werden.

3.1.3 Ergebnisse

3.1.3.1 Histologie

Die Lokalisation der Mikrodialysesonden innerhalb des Nac ist in Abbildung 4 dargestellt. Die Dialysesonden aller untersuchten Tiere waren im Nac lokalisiert, so dass kein Tier von der Auswertung ausgeschlossen werden musste. Bei einigen Tieren kam es zu einem unilateralen Verlust der Dialysesonden (Verstopfung der Silica-Kapillare).

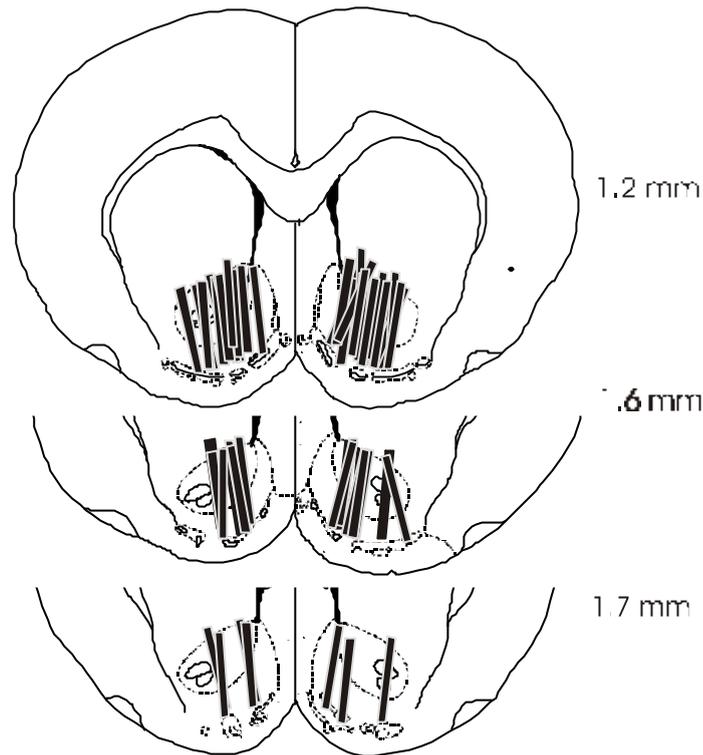


Abb. 4 Lokalisation der Mikrodialysesonden (aktive Membranfläche) in Koronalschnitten des Rattenhirns nach Paxinos & Watson (1986). Die Zahlen zeigen den Abstand von Bregma an.

3.1.3.2 Verhalten

Die Injektion von Saline/Kokain ($n=9$) induzierte einen bedeutenden Anstieg der Lokomotion ($F_{17,136}=4.11$, $p<0.0001$; Abb. 5), der im 20 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P7) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P5 vs. P7: $p<0.0001$). Die Injektion von WAY100635/Kokain ($n=9$) führte ebenfalls zu einem Anstieg der Lokomotion nach der Kokain-Injektion ($F_{17,153}=2.28$, $p<0.01$), der jedoch geringer war als in der Saline/Kokain Gruppe und sich nicht bedeutsam von der Ausgangslage unterschied (Tukey's Test, $p>0.05$). Ebenfalls die Injektion von WAY100635/Saline ($n=6$) führte zu einem schwachen Anstieg in der Lokomotion ($F_{17,68}=2.48$, $p<0.01$), der sein Maximum im Intervall nach der WAY100635 Injektion (P6) erreichte (Tukey's Test, P5 vs. P6: $p<0.05$). Die Injektion von Saline/Saline ($n=7$) induzierte ebenfalls einen schwachen Anstieg der Lokomotion ($F_{17,102}=2.04$, $p<0.05$), der jedoch keinen bedeutsamen Unterschied zur Ausgangslage aufwies (Tukey's Test, $p>0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{17,459}=3.57$, $p<0.0001$), Behandlung ($F_{3,27}=5.69$, $p<0.01$) und die Probenintervalle x

Behandlung Interaktion ($F_{51,459}=2.81$, $p<0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied in der Lokomotion zwischen der Saline/Kokain und der WAY100635/Kokain Gruppe in den beiden 20 Minuten Intervallen nach der Kokain-Injektion (P7: $p<0.001$; P8: $p<0.001$). Die Lokomotion unterschied sich ebenfalls bedeutsam in diesen Intervallen zwischen der Saline/Kokain und der Saline/Saline Gruppe (P7: $p<0.001$; P8: $p<0.0001$). Kein bedeutsamer Unterschied fand sich dagegen zwischen WAY100635/Kokain und Saline/Saline Gruppe und zwischen WAY100635/Saline und Saline/Saline Gruppe ($p>0.05$). Diese Ergebnisse werden zudem durch die Feinanalyse der Lokomotion (Abb. 6) bestätigt, die zeigt, dass der Anstieg der Lokomotion nach der Kokain-Injektion in der Saline/Kokain Gruppe deutlich größer ist, als der in der WAY100635/Kokain Gruppe, und beide Anstiege wiederum größer sind als die lokomotorische Aktivität in der WAY100635/Saline und der Saline/Saline Gruppe.

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen bedeutsamen Anstieg im Aufrichtverhalten ($F_{17,136}=3.73$, $p<0.0001$; Abb. 5), der im 20 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P7) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P5 vs. P7: $p<0.0001$). Die Injektion von WAY100635/Kokain führte ebenfalls zu einem Anstieg im Aufrichtverhalten nach der Kokain-Injektion ($F_{17,153}=2.18$, $p<0.01$), der jedoch geringer war als in der Saline/Kokain Gruppe und sich nicht bedeutsam von der Ausgangslage unterschied (Tukey's Test, $p>0.05$). Ebenfalls die Injektion von WAY100635/Saline führte zu einem schwachen Anstieg im Aufrichtverhalten ($F_{17,68}=5.51$, $p<0.0001$), der sein Maximum im Intervall nach der WAY100635-Injektion (P6) erreichte (Tukey's Test, P5 vs. P6: $p<0.001$). Die Injektion von Saline/Saline induzierte einen schwachen Anstieg im Aufrichtverhalten ($F_{17,102}=1.77$, $p<0.05$), der jedoch keinen bedeutsamen Unterschied zum letzten Ausgangslagewert P5 aufwies (Tukey's Test, $p>0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für den Faktor Probenintervalle ($F_{17,459}=3.67$, $p<0.0001$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{51,459}=1.85$, $p<0.001$). Post hoc Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied im Aufrichtverhalten zwischen der Saline/Kokain und der WAY100635/Kokain Gruppe im 20 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P7: $p<0.0001$). Das Aufrichtverhalten unterschied sich ebenfalls bedeutsam in diesem Intervall zwischen der Saline/Kokain und der Saline/Saline Gruppe (P7: $p<0.0001$).

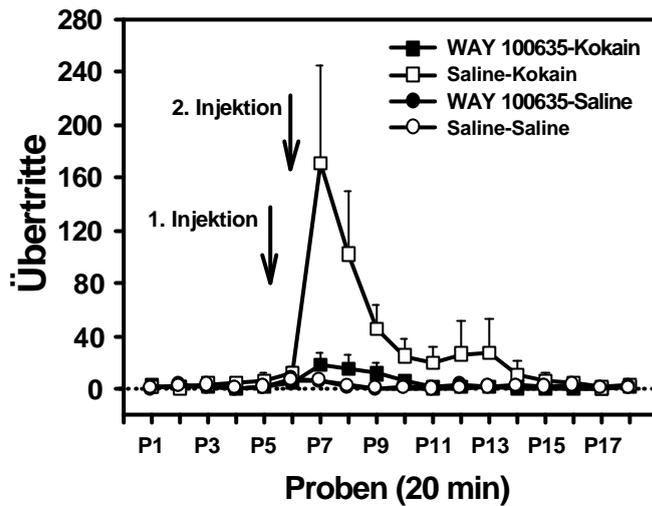
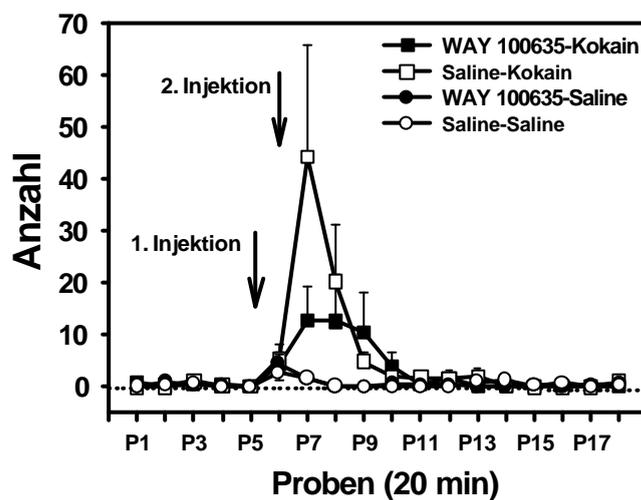
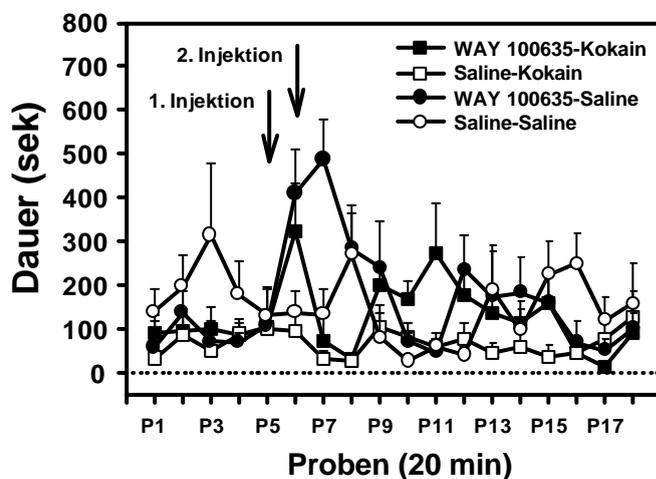
A**Lokomotion****B****Aufrichtverhalten****C****Putzverhalten**

Abb. 5 Lokomotion (A), Aufrichtverhalten (B) und Putzverhalten (C) nach Behandlung mit entweder WAY100635 (0.4 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, mit WAY100635-Saline oder Saline-Saline. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 18 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 20 Minuten. Fünf Ausgangslage Probenintervallen (P1-P5) folgten jeweils 2 i.p. Injektionen (Pfeile) im Abstand von 20 Minuten.

Kein bedeutsamer Unterschied fand sich dagegen zwischen der WAY100635/Kokain und Saline/Saline Gruppe und zwischen der WAY100635/Saline und Saline/Saline Gruppe ($p > 0.05$). Analog zur Lokomotion zeigt die Feinanalyse des Aufrichtverhaltens (Abb. 6), dass der Anstieg im Aufrichtverhalten nach der Kokain-Injektion in der Saline/Kokain Gruppe deutlich größer ist als der in der WAY100635/Kokain Gruppe und beide Anstiege wiederum größer sind als die Aufrichtaktivität in der WAY100635/Saline und der Saline/Saline Gruppe.

Weder die Saline/Kokain noch die WAY100635/Kokain oder die Saline/Saline Behandlung hatten einen bedeutsamen Effekt auf das Putzverhalten ($p > 0.05$; Abb. 5). Von allen vier Gruppen führte lediglich die WAY100635/Saline Behandlung zu einem bedeutsamen Anstieg im Putzverhalten ($F_{51,459}=1.85$, $p < 0.001$), der nach der WAY100635-Injektion begann und im Intervall P7 sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P5 vs. P7: $p < 0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte bedeutsame Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{17,476}=2.00$, $p < 0.01$) und Behandlung ($F_{3,28}=4.45$, $p < 0.05$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{51,476}=2.28$, $p < 0.0001$). Post hoc Tests für die Interaktion zeigten jedoch keinen deutlichen Unterschied. Die Feinanalyse des Putzverhaltens verdeutlicht dagegen, dass die Putzaktivität in beiden WAY100635 Gruppen nach der ersten Injektion in Intervall P6 ansteigt. Nach der Kokain-Injektion fällt sie in der WAY100635/Kokain Gruppe jedoch auf das Level der Saline/Saline und Saline/Kokain Gruppe ab, wogegen sie in der WAY100635/Saline Gruppe auch nach der Saline-Injektion noch erhöht bleibt.

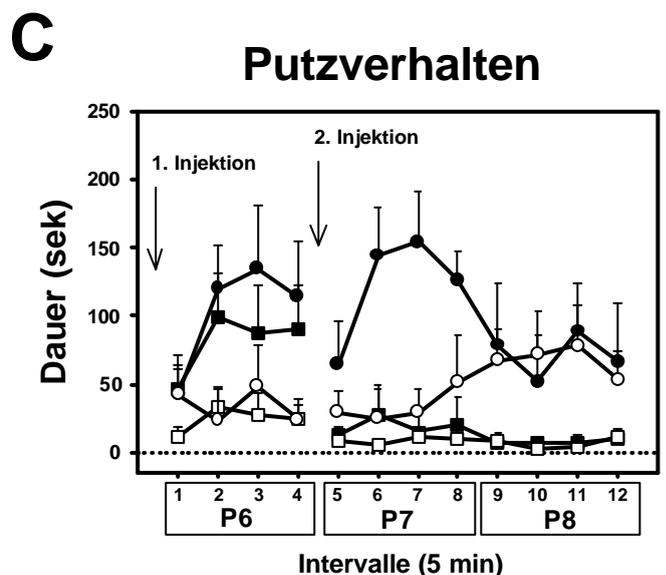
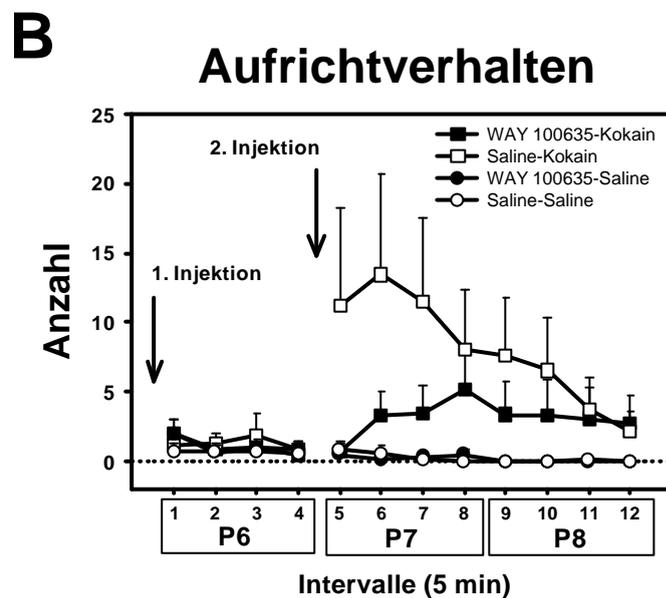
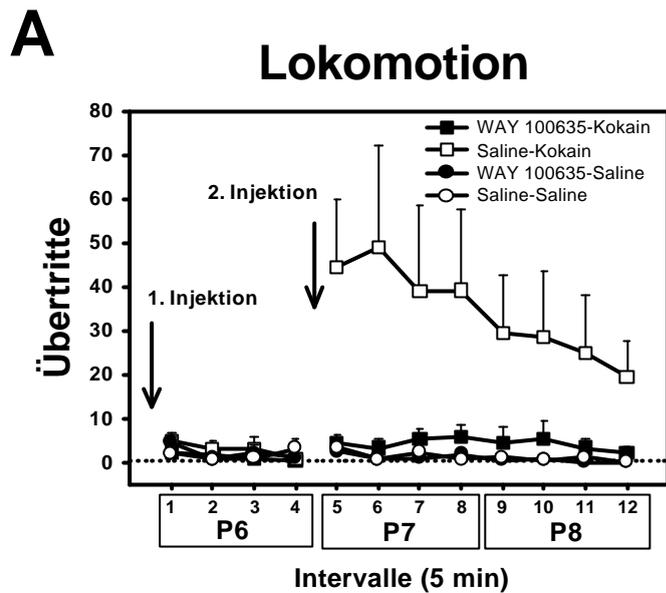


Abb. 6 Feinanalyse von Lokomotion (A), Aufrichtverhalten (B) und Putzverhalten (C) nach Behandlung mit entweder WAY100635 (0.4 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9 %iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, mit WAY100635-Saline oder Saline-Saline. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler für jede Behandlungsgruppe in Intervallen von 5 Minuten innerhalb der 3 Probenintervalle P6-P8. Pfeile zeigen den Zeitpunkt der 2 i.p. Injektionen an.

3.1.3.3 Neurochemie

Der mittlere Ausgangswert der DA-Konzentration im Nac betrug 10.7 ± 0.6 pg/40 μ l, wobei kein bedeutsamer Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen in der Ausgangslage beobachtet wurde (links und rechts: $p > 0.05$). Der mittlere Ausgangswert der DOPAC-Konzentration im Nac betrug 1340.1 ± 55.8 pg/40 μ l, wobei ebenfalls kein bedeutsamer Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen in der Ausgangslage beobachtet wurde (links und rechts: $p > 0.05$). Weiterhin wurde kein bedeutsamer Unterschied zwischen dem linken und rechten Nac in der DA- und DOPAC-Konzentration ($p > 0.05$) beobachtet. Deshalb konnten die Ergebnisse für den linken und rechten Nac für die Auswertung gepoolt werden.

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen bedeutsamen Anstieg der DA-Konzentration im Nac ($F_{17,187}=9.24$, $p < 0.0001$; Abb. 7), der im 20 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P7) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P5 vs. P7 und P8: $p < 0.0001$). Die Injektion von WAY100635/Kokain führte ebenfalls zu einem Anstieg der DA-Konzentration im Nac nach der Kokain-Injektion ($F_{17,187}=7.59$, $p < 0.0001$), der mit dem in der Saline/Kokain Gruppe vergleichbar war, sein Maximum aber erst ein Probenintervall später (P8) erreichte (Tukey's Test, P5 vs. P7 und P8: $p < 0.0001$). Weder die Injektion von WAY100635/Saline noch die Injektion von Saline/Saline hatten einen bedeutsamen Effekt auf die DA-Konzentration im Nac ($p > 0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte bedeutsame Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{17,697}=9.18$, $p < 0.0001$), Behandlung ($F_{3,41}=6.13$, $p < 0.01$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{51,697}=4.13$, $p < 0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen deutlichen Unterschied zwischen Saline/Kokain und Saline/Saline Gruppe (P7: $p < 0.0001$, P8: $p < 0.001$) und zwischen WAY100635/Kokain und Saline/Saline Gruppe (P7 und P8: $p < 0.0001$), nicht jedoch zwischen Saline/Kokain und WAY100635/Kokain oder zwischen WAY100635/Saline und Saline/Saline Gruppe ($p > 0.05$).

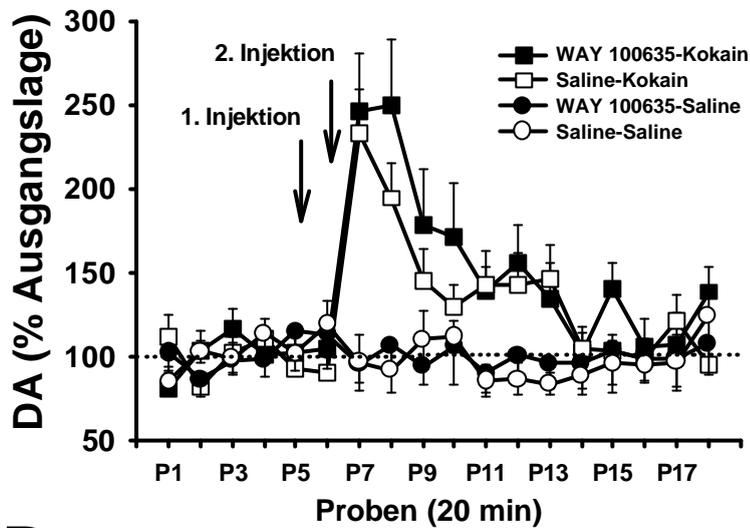
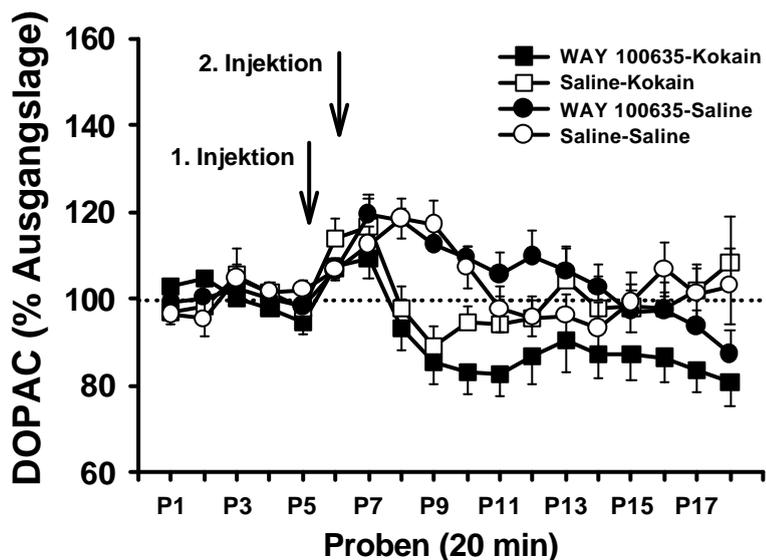
A**Ncl. accumbens****B**

Abb. 7 Dopamin (A)- und DOPAC (B)-Konzentrationen im Nucleus accumbens nach Behandlung mit entweder WAY100635 (0.4 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9 %iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, mit WAY100635-Saline oder Saline-Saline. Die Konzentrationen sind als Prozentwerte der 5 Ausgangslagewerte (Mittelwerte \pm Standardfehler) für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 18 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 20 Minuten dargestellt. Fünf Ausgangslage Probeintervallen (P1-P5) folgten jeweils 2 i.p. Injektionen (Pfeile) im Abstand von 20 Minuten.

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen leichten Anstieg in der DOPAC-Konzentration im Nac (Abb. 7), der von einem Abfall unter Ausgangslageniveau gefolgt wurde ($F_{17,221}=2.45$, $p<0.01$). Post hoc Tests zeigten jedoch keinen bedeutsamen Effekt im Vergleich zur Ausgangslage ($p>0.05$). Ebenfalls die Injektion von WAY100635/Kokain induzierte einen leichten Anstieg in der DOPAC-Konzentration im Nac, der von einem, bis zum Ende der Messungen anhaltenden, Abfall unter Ausgangslageniveau gefolgt wurde ($F_{17,238}=5.73$, $p<0.0001$). Post hoc Tests zeigten keinen bedeutsamen Effekt im Vergleich zur Ausgangslage ($p>0.05$). Ein lang anhaltender Anstieg der DOPAC-Konzentration im Nac folgte der Injektion

von WAY100635/Saline ($F_{17,170}=8.33$, $p<0.0001$), der sein Maximum in Intervall P7 erreichte (Tukey's Test, P5 vs. P7: $p<0.001$, P8: $p<0.001$). Ein kürzerer Anstieg der DOPAC-Konzentration folge der Injektion von Saline/Saline ($F_{17,170}=3.60$, $p<0.0001$). Post hoc Tests zeigten jedoch keinen bedeutsamen Effekt im Vergleich zur Ausgangslage ($p>0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{17,799}=7.39$, $p<0.0001$), Behandlung ($F_{3,47}=3.13$, $p<0.05$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{51,799}=3.07$, $p<0.0001$). Bedeutsame Unterschiede wurden zwischen Saline/Kokain und Saline/Saline Gruppe (Tukey's Test, P9: $p<0.01$) und WAY100635/Kokain und Saline/Saline Gruppe (Tukey's Test, P8: $p<0.05$, P9: $p<0.0001$, P10: $p<0.05$) und auch zwischen Saline/Kokain und WAY100635/Kokain Gruppe (Tukey's Test, P18: $p<0.001$) gefunden. Kein bedeutsamer Unterschied wurde in post hoc Tests für die Interaktion zwischen der WAY100635/Saline und der Saline/Saline Gruppe gefunden ($p>0.05$).

3.1.4 Diskussion

3.1.4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In Experiment I wurde gefunden, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonist WAY100635 die akuten Verhaltenseffekte von Kokain inhibieren kann. Die Injektion von Kokain (10 mg/kg, i.p.) führte zu einem Anstieg der Lokomotion und des Aufrichtverhaltens. Kokain hatte dabei keinen erkennbaren Einfluss auf das Putzverhalten. Eine Dosierung von 0.4 mg/kg WAY100635 führte zu einer Verringerung des Kokain-induzierten Anstiegs der Lokomotion und des Aufrichtverhaltens. WAY100635 hatte jedoch keinen Einfluss auf das Putzverhalten nach Kokain-Gabe. Kokain induzierte parallel zur Hyperaktivität einen Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration im Nac. Obwohl WAY100635 die akute Kokain-induzierte Hyperaktivität inhibieren konnte, unterschied sich der zeitliche Verlauf der DA-Konzentration im Nac nicht zwischen Saline/Kokain und WAY100635/Kokain Gruppen. Kokain hatte in diesem Experiment keinen bedeutsamen Einfluss auf den zeitlichen Verlauf der DOPAC-Konzentration im Nac. Auch die Gabe von WAY100635/Kokain hatte keinen Einfluss auf die DOPAC-Konzentration im Vergleich zur Ausgangslage, war aber im letzten Messintervall deutlich verringert gegenüber Saline/Kokain. Sowohl die Saline/Kokain

als auch die WAY100635/Kokain Behandlung führten zu einer verringerten DOPAC-Konzentration im Vergleich zu Saline.

Die Gabe von WAY100635 allein führte zu einem leichten Anstieg in der Lokomotion und im Aufrichtverhalten unmittelbar nach WAY100635-Gabe, der sich allerdings nur in der WAY100635/Saline, nicht jedoch in der WAY100635/Kokain Gruppe bedeutsam von der Ausgangslage unterschied. WAY100635 führte zudem zu einem Anstieg im Putzverhalten, der durch Kokain-Gabe in der WAY100635/Kokain Gruppe inhibiert wurde. Die Injektion von Saline hatte keinen Effekt auf die Lokomotion, das Aufricht- oder Putzverhalten. Weder WAY100635 noch Saline hatten einen deutlichen Einfluss auf die DA-Konzentration im Nac. WAY100635 führte zu einem Anstieg der DOPAC-Konzentration im Vergleich zur Ausgangslage, nicht jedoch im Vergleich zu Saline.

3.1.4.2 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus und die Verhaltenseffekte von Kokain

Die in Experiment I beobachteten Ergebnisse bestätigen die Befunde von Carey et al. (2000, 2001), die eine Inhibierung Kokain-induzierter Hyperaktivität durch pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors berichten. Eine verringerte Bioverfügbarkeit von Kokain nach WAY100635-Gabe ist als Ursache für die Effekte auf Kokain-induzierte Hyperaktivität genauso unwahrscheinlich wie eine verringerte Corticosteron-Antwort im Blut. Carey et al. (2001) hatten gezeigt, dass eine Konzentration von 0.4 mg/kg WAY100635 (i.p.) keinen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von Kokain im Gehirn oder den Kokain-induzierten Anstieg von Corticosteron im Blut hat. Bezüglich der Effekte einer pharmakologischen Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors auf Kokain-induzierte Hyperaktivität gibt es allerdings auch gegenteilige Befunde. So fanden Przegaliński & Filip (1997) keinen Effekt auf Hyperaktivität mit dem weniger selektiven 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonisten WAY 100135, induziert durch eine geringe Dosis Kokain (5 mg/kg, i.p.). Herges & Taylor (1998) berichteten sogar eine leichte Potenzierung der lokomotorischen Effekte von Kokain (15 mg/kg, i.p.) durch WAY100635 (0.1 und 1.5 mg/kg, s.c.). Allerdings verwendeten diese Autoren eine Anordnung mit drei Injektionen, bei der WAY100635 subkutan, dann Saline und erst 1 Stunde danach Kokain verabreicht wurden. Damit sind beide Studien nur bedingt mit den Ergebnissen aus Experiment I und den Ergebnissen von Carey et al. (2000, 2001) vergleichbar. Ausgehend von den hier

dargestellten Ergebnissen und den Befunden von Carey et al. (2000, 2001) kann angenommen werden, dass ein funktionaler, d.h. nicht blockierter 5-HT_{1A}-Rezeptor eine essentielle Voraussetzung für die Expression akuter Kokain-induzierter Hyperaktivität ist, die sich bei der Ratte vor allem in einem Anstieg der Lokomotion und des Aufrichtverhaltens äußert. Die in der Literatur berichtete Inhibierung spontanen Putzverhaltens durch Kokain (van der Hoek & Cooper, 1990; Cooper & van der Hoek, 1993) konnte in diesem Experiment nicht beobachtet werden. Ein Grund dafür könnte die geringe spontane Häufigkeit von Putzverhalten sein, so dass es nach Kokain-Gabe zu einem Bodeneffekt kommt. Die inhibitorischen Effekte von Kokain auf das Putzverhalten werden aber auch in diesem Experiment sichtbar, da Kokain, das durch 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade induzierte Putzverhalten, inhibiert. Daraus geht hervor, dass die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors nicht alle akuten Verhaltenseffekte von Kokain blockieren kann. Zumindest die Kokain-induzierte Suppression von Putzverhalten scheint 5-HT_{1A}-Rezeptor unabhängig zu sein. In Experiment I wurde auch bestätigt, dass die akute Unterdrückung von Putzverhalten durch Kokain keinen sekundären Verhaltenseffekt darstellt, der aus der erhöhten Lokomotion resultiert. Obwohl die 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade eine akute Kokain-induzierte Hyperaktivität hemmt, kommt es nicht zu einem Anstieg im Putzverhalten.

3.1.4.3 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus und die Effekte von Kokain im dopaminergen System

Das Ziel von Experiment I war es, zu untersuchen, ob die durch 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade induzierte Inhibierung akuter Kokain-induzierter Hyperaktivität durch einen dopaminergen Mechanismus im Nac mediiert wird. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass dies nicht der Fall war. Obwohl die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors die Verhaltensaktivierung nach Kokain hemmt, beeinflusst sie nicht den Kokain-induzierten Anstieg der DA-Konzentration im Nac. Ichikawa et al. (1995) fanden, dass ein durch Amphetamin induzierter DA-Anstieg im Nac durch 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade ebenfalls nicht beeinflusst wird. Die Hyperaktivität nach Kokain und anderen Psychostimulantien wurde bisher stets mit dem DA-Anstieg im Nac assoziiert (Koob 1992). Diese Annahme kann nach den Ergebnissen von Experiment I angezweifelt werden. Eine verringerte DOPAC-Konzentration im Nac, im Vergleich

zu Saline, wurde in beiden Kokain Gruppen gefunden und reflektiert eine verringerte DA-Syntheseaktivität nach Kokain-Gabe (Racke´ et al., 1987; Zetterström et al., 1988; Cumming et al., 1992). Es ist bekannt, dass Kokain durch Blockade des DAT zu einem Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration, auf der Ebene der Somata dopaminerger Neurone jedoch zu einer Verringerung der Feuerfrequenz führt (Johanson & Fischman, 1989). Da die DA-Syntheserate an die Feuerfrequenz gekoppelt ist, bestätigt eine verringerte DA-Syntheserate nach Kokain die bekannten Befunde. Die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors hatte in diesem Experiment keinen Einfluss auf die DOPAC-Konzentration nach Kokain-Gabe. Damit bestätigt dieses Experiment wiederum die Befunde von Carey et al. (2001), die post mortem in Hirngewebeproben gezeigt hatten, dass die Verabreichung des 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonisten WAY100635 keinen Effekt auf die Kokain-induzierte Verringerung des DOPAC/DA-Konzentrationsverhältnisses im Hirngewebe hat. Aus Experiment I geht hervor, dass ein Anstieg der DA-Konzentration im Nac möglicherweise eine notwendige, aber keine hinreichende, Bedingung für eine Verhaltensaktivierung nach Kokain ist. Wenn die dopaminerge Antwort im Nac aber nicht, wie bisher angenommen, allein verantwortlich für die akute Kokain-induzierte Hyperaktivität ist, stellt sich die Frage, welche neurochemischen Mechanismen und Hirnstrukturen neben dem DA im Nac dafür mitverantwortlich sind.

3.1.4.4 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus und spontanes Verhalten

Die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors hatte in Experiment I nur einen schwachen aktivierenden Effekt auf Lokomotion und Aufrichtverhalten. Der 5-HT_{1A}-Rezeptor scheint damit nicht essentiell an der Generierung spontaner Lokomotion und Aufrichtaktivität beteiligt zu sein (Herges & Taylor, 1998; Carey et al., 2000, 2001). Die lokomotorischen Aktivierungseffekte, die in einer Studie von Jackson et al. (1998) gefunden wurden, gehen auf eine deutlich höhere Dosierung von WAY100635 zurück (>0.97 mg/kg, s.c.), bei der die Aktivierung anderer Rezeptoren, wie z.B. des DA D2-Rezeptors, nicht mehr ausgeschlossen werden kann (Fletcher et al., 1996). Die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors induzierte Putzverhalten in diesem und in anderen Experimenten (Carey et al., 2000, 2001). Damit konnte die Annahme einer inhibitorischen Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei spontanem Putzverhalten bestätigt werden.

3.1.4.5 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus und das dopaminerge System

Die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors hatte in diesem Experiment keinen Einfluss auf die extrazelluläre DA-Konzentration im Nac. Diese Beobachtung wird durch mehrere Befunde unterstützt, wie z.B. die von Lejeune & Millan (1998), die zeigen konnten, dass WAY100635 keinen Effekt auf die Feuerfrequenz dopaminergener Neurone in der VTA hat. Cousins & Seiden (2000) fanden zudem, dass WAY100635 keinen Effekt auf DA sensitive konditionierte Verstärkung hat. Da die DA-Syntheserate von der Feuerfrequenz dopaminergener Neurone abhängt, ist der beobachtete Anstieg der extrazellulären DOPAC-Konzentration im Nac nach WAY100635 kritisch zu betrachten, zumal er sich nicht bedeutsam von einem leichten Anstieg der DOPAC-Konzentration nach Saline-Injektion unterschied.

3.2 Experiment II

3.2.1 Einleitung

Das wichtigste Ergebnis aus Experiment I war, dass die 5-HT_{1A}-Rezeptor induzierte Hemmung der akuten Hyperaktivität nach Kokain nicht durch eine veränderte Aktivierung der dopaminergen Innervierung des Nac mediiert wurde. Ein Anstieg der DA-Konzentration im Nac allein reicht demzufolge nicht aus, um die akute Hyperaktivität nach Kokain-Gabe zu induzieren. Zweifel an der alleinigen Rolle von DA im Nac bei der neurochemischen Mediierung der akuten Hyperlokomotion nach Kokain hatten auch Studien von Rothman et al. (1992) und Newman et al. (1994) aufgeworfen. Die Autoren fanden, dass die Affinität verschiedener selektiver DAT-Blocker zum DAT nicht mit der Intensität der dadurch induzierten lokomotorischen Aktivierung korreliert. Zudem wurde gefunden, dass Kokain auch weiterhin von Mäusen, die keinen DAT mehr exprimieren (DAT-Gen knock out), selbstverabreicht wird (Rocha et al., 1998), was gegen eine Rolle des DAT bei den Verstärkereffekten von Kokain sprechen würde (siehe aber auch: Carboni et al., 2001). Sora et al. (2001) bestätigten diese Vermutung, indem sie zeigen konnten, dass Kokain auch in DAT knock out Mäusen noch konditionierte Platzpräferenz, die ein Maß für die Verstärkerwirkung eines Stimulus ist, induzieren kann. Erst wenn neben dem DAT auch noch der SERT nicht mehr exprimiert wird (DAT/SERT-Doppel-Gen knock out), kann Kokain keine konditionierte Platzpräferenz mehr induzieren. Diese Befunde sprechen nicht nur gegen eine alleinige Rolle des dopaminergen Systems, sondern auch für eine zusätzliche Rolle des serotonergen Systems bei den akuten Verhaltenseffekten von Kokain.

Das serotonerge System wurde bereits mehrfach im Zusammenhang mit Kokain untersucht (Walsh & Cunningham, 1997). Eine Beteiligung an den Verhaltenseffekten von Kokain gilt als nachgewiesen, wobei die genauen neurochemischen Mechanismen noch unklar sind. Das Ziel von Experiment II war es deshalb zu untersuchen, inwieweit Veränderungen in der serotonergen Aktivität an der 5-HT_{1A}-Rezeptor mediierten Inhibierung der akuten Verhaltenseffekte von Kokain beteiligt sind. Sowohl der Nac selbst als auch Nac-Afferenzen und Nac-Efferenzen unterliegen einem starken serotonergen Einfluss (Jacobs & Azmitia, 1992; Halliday et al., 1995; Feldman et al., 1997; Baumgarten & Grozdanovic, 1999; Jacobs & Fornal, 1999). Eine wichtige afferente Projektion zum Nac, die an der Generierung spontaner

lokomotorischer Aktivität beteiligt ist, hat ihren Ursprung im ventralen Hippocampus (Kelley & Domesick, 1982; Groenewegen et al., 1987). Diese Projektion benutzt, so wie die Nac Afferenzen aus dem präfrontalen Kortex oder der Amygdala, Glutamat als Transmitter (Johnston & Amaral, 1998). Ein Anstieg der Glutamat-Konzentration im Nac nach Kokain-Gabe (Smith et al., 1995) könnte damit auch ein Indikator einer veränderten Aktivität der Hippocampus-Nac Projektion sein. Sowohl im Nac als auch im Hippocampus beeinflusst 5-HT die neuronale Aktivität (Azmitia et al., 1984; White et al., 1993). Allerdings wurde ein Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration nach Kokain-Gabe bisher lediglich für den Nac, nicht aber für den Hippocampus gezeigt (Parsons & Justice, 1993; Essman et al., 1994; Teneud et al., 1996; Andrews & Lucki, 2001). Da auch der Hippocampus über SERTs, d.h. über die primären Bindungsstellen von Kokain im serotonergen System, verfügt, wurde postuliert, dass Kokain, ähnlich wie im Nac, auch im Hippocampus zu einem Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration führt. Weil der 5-HT_{1A}-Rezeptor ein wichtiger Bestandteil des serotonergen Systems ist und die Feuerfrequenz serotonerger Neurone reguliert, wurde weiterhin erwartet, dass die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors parallel zur Inhibierung der Kokain-induzierten Hyperaktivität den 5-HT-Anstieg nach Kokain im Nac und Hippocampus und die 5-HT-Syntheseaktivität moduliert.

3.2.2 Spezielle Methoden

Eine Woche vor Beginn der in-vivo Mikrodialyse Messungen wurden jedem Tier zwei Führungskanülen, jeweils eine in den Nac und eine in den ventralen Hippocampus, implantiert. Die Führungskanüle in den Nac wurde in einem Winkel von +/- 10° mit den Koordinaten: anterior: +1.2 mm, lateral: +/-2.6 mm, ventral: -5.8 mm (Referenz: Bregma, Paxinos & Watson, 1986) implantiert. Leicht von Experiment I abweichende Koordinaten ergaben sich aus der Verwendung einer modifizierten, d.h. längeren Dialysesonde. Die Koordinaten für die Führungskanüle im Hippocampus waren: anterior: -6.0 mm, lateral: +/-4.8 mm, ventral: -3.2 mm (Referenz: Bregma, Paxinos & Watson, 1986). Um eine sichere Messung von 5-HT im Nac zu gewährleisten, wurde im Vergleich zu Experiment I eine längere Dialysesonde (aktive Fläche; Nac: 3 mm; Hippocampus: 4 mm) verwendet. Zudem wurde mit 10 Minuten längeren Probenintervallen bei einem auf 1.5 µl/min verringerten Perfusionsfluss gemessen.

Da in Vortests bei einigen Tieren über Nacht ein Absinken der 5-HT-Ausgangskonzentration unter das Detektionslimit beobachtet wurde, konnten in den Experimenten II-IV die Dialysesonden erst am Tag der Messungen eingesetzt werden. Dieses Vorgehen entspricht einer generell üblichen Praxis bei in-vivo Mikrodialyse Messungen am anästhesierten Tier (z.B. De Souza et al., 1997; Dringenberg et al., 1998). Nach spätestens 2 Stunden wurde in jedem gemessenen Tier eine stabile Ausgangskonzentration 5-HT und 5-HIAA beobachtet (siehe auch: Carboni & Di Chiara, 1989; Sharp et al., 1989a).

Während des Experiments erfolgte die Probennahme alle 30 Minuten (Probenintervall). Zunächst wurden 3 Ausgangslage Proben genommen. Dem folgte eine i.p. Injektion mit entweder 0.4 mg/kg WAY100635 oder Saline. Nach einem weitem Probenintervall erhielt jedes Tier eine zweite i.p. Injektion mit entweder 10 mg/kg Kokain oder Saline. Die verwendeten Konzentrationen WAY100635 und Kokain wurden den Arbeiten von Carey et al. (2000, 2001) entnommen und entsprachen damit denen in Experiment I. Sowohl WAY100635 als auch Kokain wurden für die i.p. Applikation in Saline gelöst. Alle Injektionen wurden in einem Volumen von 1 ml/kg i.p. verabreicht. Nach der zweiten i.p. Injektion wurde noch 8 Intervalle lang, d.h. für 240 Minuten, gemessen. Alle Mikrodialyseproben wurden mittels HPLC-EC auf ihren Gehalt an 5-HT und 5-HIAA untersucht.

3.2.3 Ergebnisse

3.2.3.1 Histologie

Die Lokalisation der Mikrodialysesonden innerhalb des Hippocampus und des Nac ist in Abbildung 8 dargestellt. Die Dialysesonden eines Tieres waren nicht in den entsprechenden Hirngebieten lokalisiert, weshalb das Tier von der weiteren Auswertung ausgeschlossen wurde. Die Dialysesonden aller anderen Tiere waren im Hippocampus und Nac lokalisiert. Bei einigen Tieren kam es zu einem unilateralen Verlust der Dialysesonden (Verstopfung der Silica-Kapillare).

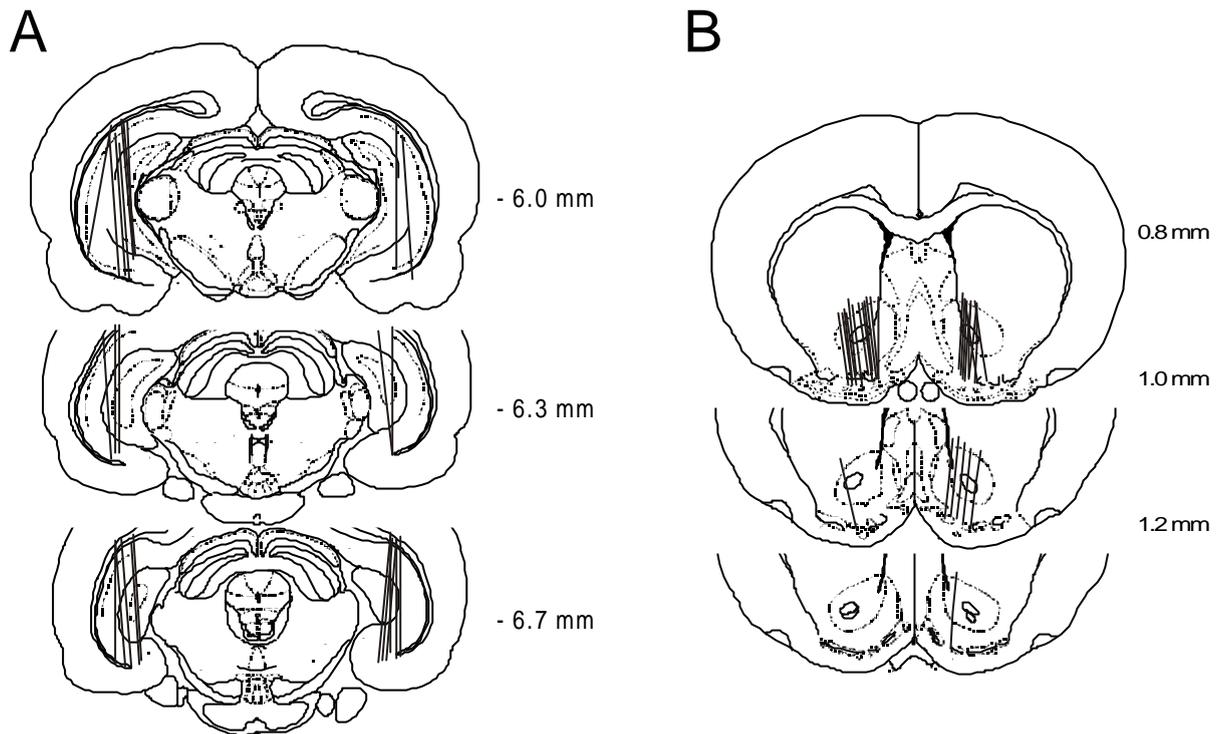


Abb. 8 Lokalisation der Mikrodialysesonden (aktive Membranfläche) in Koronalschnitten des Rattenshirns nach Paxinos & Watson (1986). Die Zahlen zeigen den Abstand von Bregma an.

3.2.3.2 Verhalten

Die Injektion von Saline/Kokain ($n=13$) induzierte einen bedeutsamen Anstieg der Lokomotion ($F_{11,132}=7.36$, $p<0.0001$; Abb. 9), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.0001$). Die Injektion von WAY100635/Kokain ($n=9$) führte ebenfalls zu einem Anstieg der Lokomotion ($F_{11,88}=3.58$, $p<0.001$), der bereits im Intervall nach der WAY100635 Injektion (P4) begann und im Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P4 und P5: $p<0.05$). Dieser Anstieg war jedoch geringer als in der Saline/Kokain Gruppe. Die Injektion von WAY100635/Saline ($n=9$) hatte keinen bedeutsamen Effekt auf die Lokomotion in diesem Experiment ($p>0.05$). Die Injektion von Saline/Saline ($n=10$) induzierte einen schwachen Anstieg der Lokomotion ($F_{11,99}=2.10$, $p<0.05$), der jedoch keinen bedeutsamen Unterschied zur Ausgangslage aufwies (Tukey's Test, $p>0.05$).

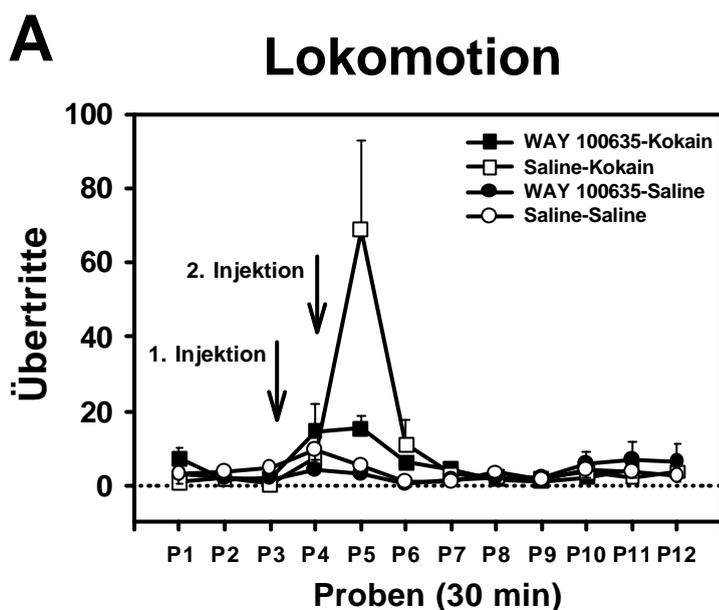
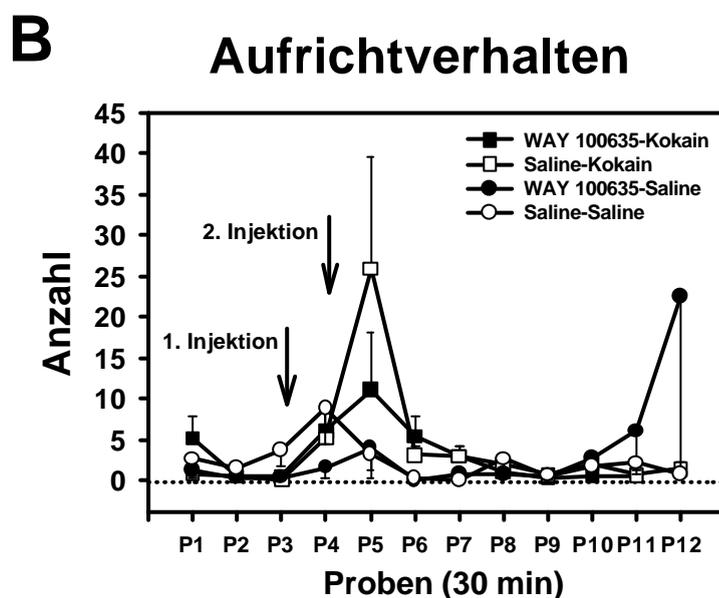


Abb. 9 Lokomotion (A) und Aufrichtverhalten (B) nach Behandlung mit entweder WAY100635 (0.4 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, WAY100635-Saline oder Saline-Saline. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten. Drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgten jeweils 2 i.p. Injektionen (Pfeile) im Abstand von 30 Minuten.



Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für den Faktor Probenintervalle ($F_{11,407}=5.93$, $p<0.0001$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,407}=4.21$, $p<0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied in der Lokomotion zwischen der Saline/Kokain und der WAY100635/Kokain Gruppe im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5: $p<0.0001$). Die Lokomotion unterschied sich ebenfalls bedeutsam in diesem Intervall zwischen der Saline/Kokain und der Saline/Saline Gruppe (P5: $p<0.0001$). Kein bedeutsamer Unterschied fand sich dagegen zwischen WAY100635/Kokain und Saline/Saline Gruppe und zwischen WAY100635/Saline und Saline/Saline Gruppe

($p > 0.05$). Diese Analyse wird zudem durch die Feinanalyse der Lokomotion (Abb. 10) bestätigt, die zeigt, dass der Anstieg der Lokomotion nach der Kokain-Injektion in der Saline/Kokain Gruppe deutlich größer ist als der in der WAY100635/Kokain Gruppe, und dass der Anstieg in der WAY100635/Kokain Gruppe nur wenig größer ist als die Lokomotion in der WAY100635/Saline und der Saline/Saline Gruppe.

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen bedeutsamen Anstieg im Aufrichtverhalten ($F_{11,132}=3.26$, $p < 0.001$; Abb. 9), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.001$). Die Injektion von WAY100635/Kokain führte ebenfalls zu einem Anstieg im Aufrichtverhalten ($F_{11,88}=2.09$, $p < 0.05$), der sein Maximum im Intervall nach der Kokain-Injektion erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.07$), jedoch geringer war als in der Saline/Kokain Gruppe. Die Injektion von WAY100635/Saline hatte in diesem Experiment keinen bedeutsamen Effekt auf das Aufrichtverhalten ($p > 0.05$). Die Injektion von Saline/Saline induzierte dagegen einen schwachen Anstieg im Aufrichtverhalten ($F_{11,99}=2.40$, $p < 0.05$), der jedoch keinen bedeutsamen Unterschied zum letzten Ausgangslagewert P3 aufwies (Tukey's Test, $p > 0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für den Faktor Probenintervalle ($F_{11,407}=2.26$, $p < 0.05$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,407}=1.48$, $p < 0.05$). Post hoc Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied im Aufrichtverhalten lediglich zwischen der Saline/Kokain und der Saline/Saline Gruppe im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5: $p < 0.05$), nicht jedoch zwischen Saline/Kokain und WAY100635/Kokain, WAY100635/Kokain und Saline/Saline bzw. WAY100635/Saline und Saline/Saline Gruppe. Analog zur Lokomotion zeigte die Feinanalyse des Aufrichtverhaltens (Abb. 10), dass der Anstieg im Aufrichtverhalten nach der Kokain-Injektion in der Saline/Kokain Gruppe deutlich größer ist als der in der WAY100635/Kokain Gruppe.

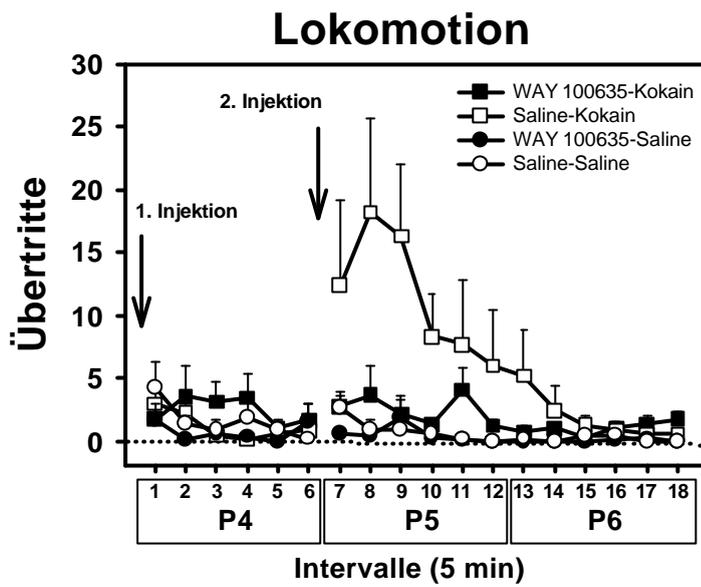
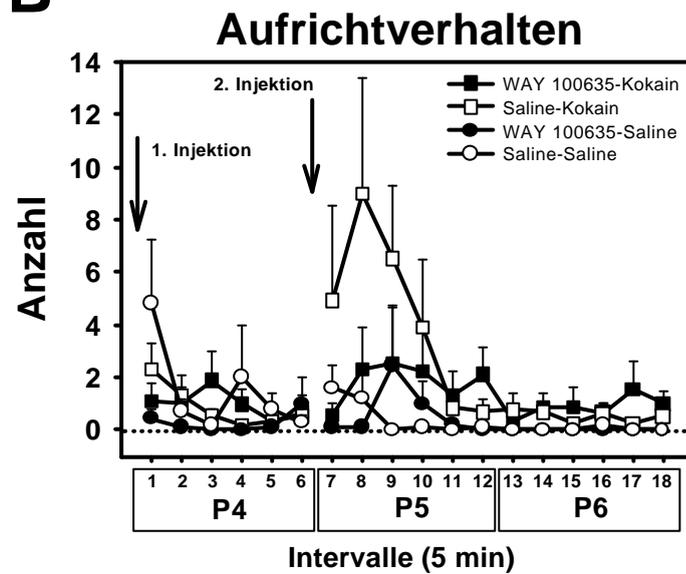
A

Abb. 10 Feinanalyse von Lokomotion (A) und Aufrichtverhalten (B) nach Behandlung mit entweder WAY100635 (0.4 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9 %iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, WAY 100 635-Saline oder Saline-Saline. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler für jede Behandlungsgruppe in Intervallen von 5 Minuten innerhalb der 3 Probenintervalle P4-P6. Pfeile zeigen den Zeitpunkt der 2 i.p. Injektionen an.

B

3.2.3.3 Neurochemie

Der Ausgangslagewert der 5-HT-Konzentration betrug im Mittel 9.6 ± 0.8 pg/45 μ l im Hippocampus und 8.2 ± 0.6 pg/45 μ l im Nac. Der Ausgangslagewert der 5-HIAA-Konzentration betrug im Mittel 772.3 ± 32.6 pg/45 μ l im Hippocampus und 1416.7 ± 52.1 pg/45 μ l im Nac. Weder für die 5-HT- noch für die 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus und im Nac wurde ein bedeutsamer Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen in der Ausgangslage beobachtet (Hippocampus und Nac: $p > 0.05$).

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen bedeutsamen Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus ($F_{11,55}=2.85$, $p < 0.01$; Abb. 11), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.05$). Die Injektion von WAY100635/Kokain führte ebenfalls zu einem Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus nach der Kokain-Injektion ($F_{11,55}=5.26$, $p < 0.0001$), der deutlich größer war als in der Saline/Kokain Gruppe und sein Maximum ebenfalls im Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.001$). Die Injektion von WAY100635/Saline führte zu einer leichten Verringerung der 5-HT-Konzentration im Hippocampus ($F_{11,55}=2.41$, $p < 0.05$), die sich jedoch nicht bedeutsam von der Ausgangslage unterschied (Tukey's Test, $p > 0.05$). Die Injektion von Saline/Saline hatte keinen Effekt auf die 5-HT-Konzentration im Hippocampus ($p > 0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,220}=6.61$, $p < 0.0001$), Behandlung ($F_{3,20}=7.78$, $p < 0.01$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,220}=4.31$, $p < 0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied zwischen Saline/Kokain und WAY100635/Kokain Gruppe im Intervall nach der Kokain-Injektion (P5: $p < 0.0001$), nicht jedoch zwischen WAY100635/Saline und Saline/Saline Gruppe ($p > 0.05$).

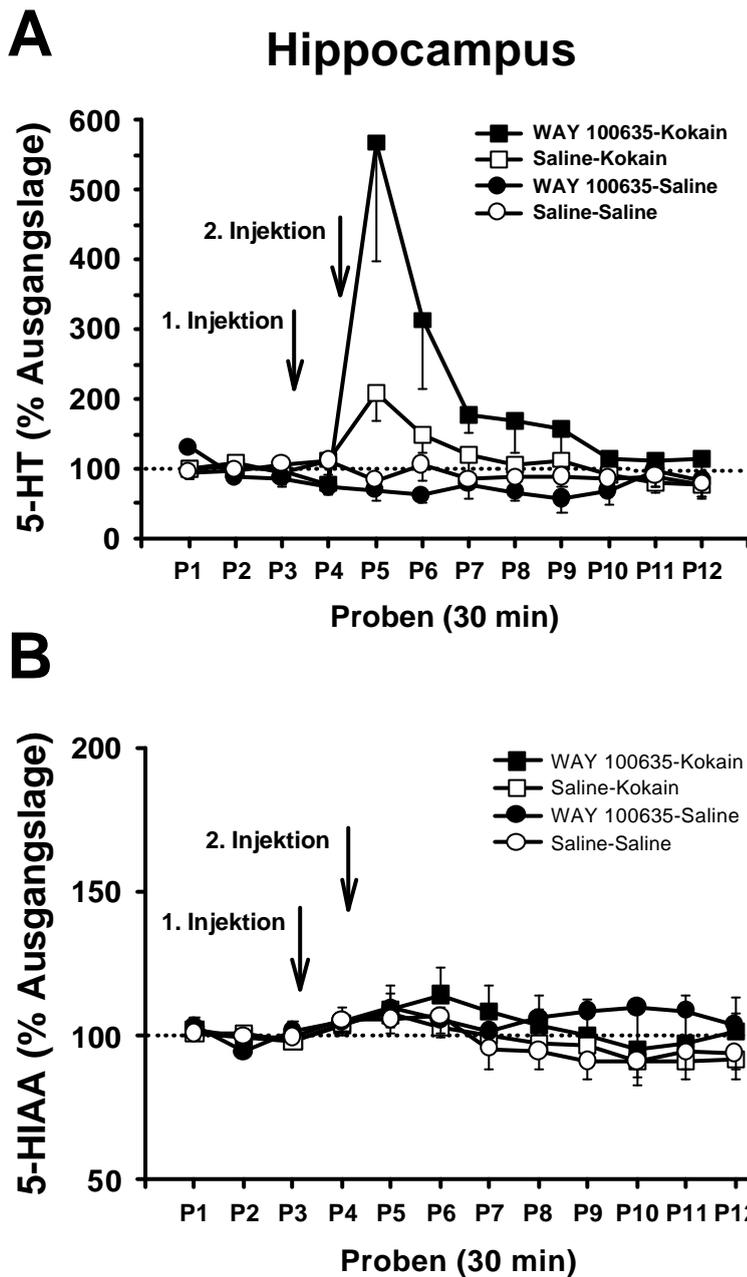


Abb. 11 Serotonin (A)- und 5-HIAA (B)-Konzentrationen im Hippocampus nach Behandlung mit entweder WAY100635 (0.4 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, mit WAY100635-Saline oder Saline-Saline. Die Konzentrationen sind als Prozentwerte der 3 Ausgangslagewerte (Mittelwerte \pm Standardfehler) für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten dargestellt. Drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgten jeweils 2 i.p. Injektionen (Pfeile) im Abstand von 30 Minuten.

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen leichten Anstieg in der 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus (Abb. 11), der von einem Abfall unter Ausgangslageniveau gefolgt wurde ($F_{11,55}=2.03$, $p<0.05$). Post hoc Tests zeigten jedoch keinen bedeutsamen Effekt im Vergleich zur Ausgangslage ($p>0.05$). Ebenfalls die Injektion von WAY100635/Kokain ($p>0.05$), WAY100635/Saline ($p>0.05$) und Saline/Saline ($F_{11,66}=2.54$, $p<0.01$) induzierte einen leichten Anstieg in der 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus, der in der Saline/Saline Gruppe dann unter das Niveau der Ausgangslage abfiel, sich jedoch nicht bedeutsam von der Ausgangslage unterschied (Tukey's Test, $p>0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA

zeigte einen deutlichen Effekt für den Faktor Probenintervalle ($F_{11,231}=3.00$, $p<0.001$), jedoch keine bedeutsamen Effekte für den Faktor Behandlung ($p>0.05$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($p>0.05$).

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen bedeutsamen Anstieg der 5-HT-Konzentration im Nac ($F_{11,88}=5.70$, $p<0.0001$; Abb. 12), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.001$, P6: $p<0.01$). Die Injektion von WAY100635/Kokain führte ebenfalls zu einem Anstieg der 5-HT-Konzentration im Nac nach der Kokain-Injektion ($F_{11,77}=11.61$, $p<0.0001$), der deutlich größer war als in der Saline/Kokain Gruppe und sein Maximum ebenfalls im Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.001$). Die Injektion von WAY100635/Saline führte zu einer leichten Verringerung der 5-HT-Konzentration im Nac ($F_{11,66}=3.30$, $p<0.01$), die sich jedoch nicht bedeutsam von der Ausgangslage unterschied (Tukey's Test, $p>0.05$). Die Injektion von Saline/Saline hatte keinen Effekt auf die 5-HT-Konzentration im Nac ($p>0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,308}=8.86$, $p<0.0001$), Behandlung ($F_{3,28}=17.21$, $p<0.0001$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,308}=5.94$, $p<0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied zwischen Saline/Kokain und WAY100635/Kokain Gruppe im Intervall nach der Kokain-Injektion (P5: $p<0.0001$), zwischen Saline/Kokain und Saline/Saline (P5: $p<0.0001$, P6: $p<0.05$) und zwischen WAY100635/Kokain und Saline/Saline (P5: $p<0.0001$), nicht jedoch zwischen WAY100635/Saline und Saline/Saline Gruppe ($p>0.05$).

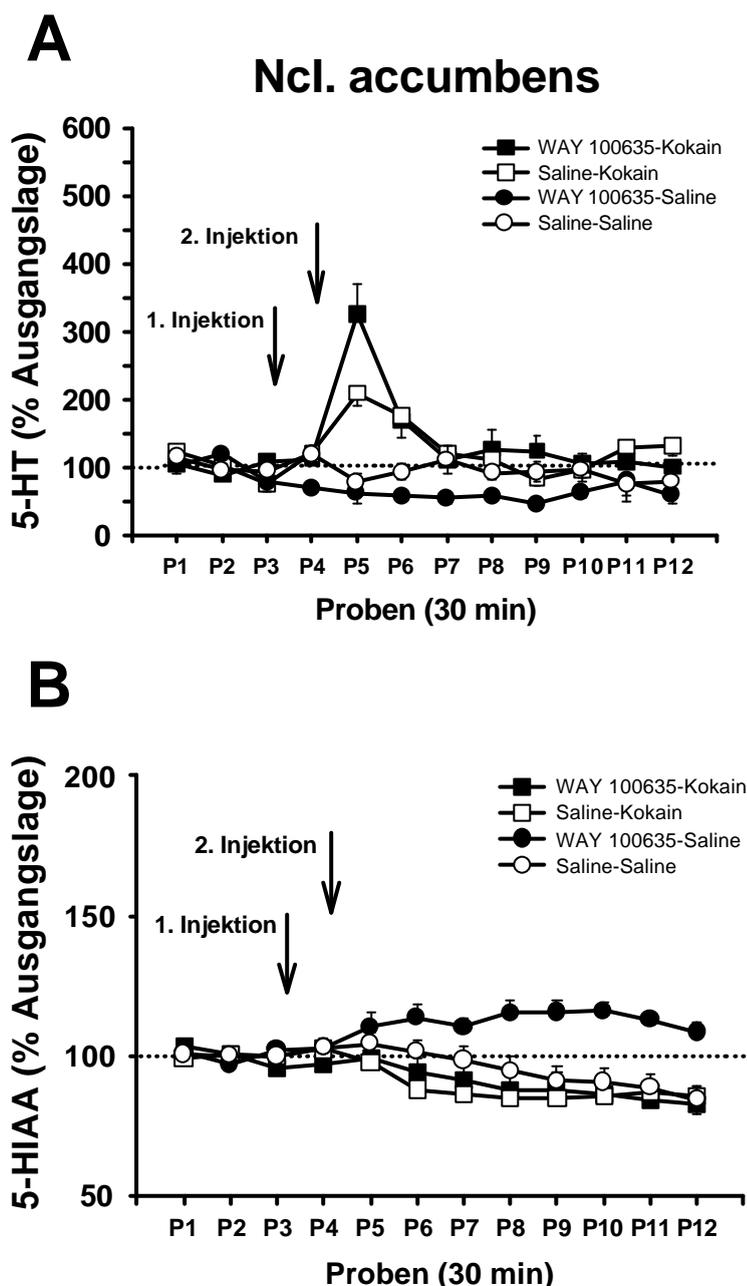


Abb. 12 Serotonin (A)- und 5-HIAA (B)-Konzentrationen im Nucleus accumbens nach Behandlung mit entweder WAY100635 (0.4 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9 %iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, mit WAY100635-Saline oder Saline-Saline. Die Konzentrationen sind als Prozentwerte der 3 Ausgangslagewerte (Mittelwerte \pm Standardfehler) für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten dargestellt. Drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgten jeweils 2 i.p. Injektionen (Pfeile) im Abstand von 30 Minuten.

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen, bis zum Ende der Messungen anhaltenden, Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Nac ($F_{11,88}=13.16$, $p<0.0001$; Abb. 12), der sein Minimum in Intervall P8 erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P6-P12: $p<0.01$). Ebenfalls die Injektion von WAY100635/Kokain induzierte einen Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Nac, der bis zum Ende der Messungen anhielt ($F_{11,66}=4.95$, $p<0.0001$). Post hoc Tests zeigten jedoch keinen bedeutsamen Effekt im Vergleich zur Ausgangslage ($p>0.05$). Dagegen folgte der Injektion von WAY100635/Saline ein

lang anhaltender Anstieg der 5-HIAA-Konzentration im Nac ($F_{11,77}=5.97$, $p<0.0001$), der sein Maximum in Intervall P10 erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P8-10: $p<0.05$). Der Injektion von Saline/Saline folgte ein bedeutsamer Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Nac ($F_{11,88}=6.51$, $p<0.0001$), der sein Minimum im letzten Probenintervall erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P12: $p<0.01$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,319}=8.94$, $p<0.0001$), Behandlung ($F_{3,29}=8.50$, $p<0.001$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,319}=6.43$, $p<0.0001$). Kein bedeutsamer Unterschied wurde in post hoc Tests für die Interaktion zwischen der Saline/Kokain und WAY100635/Kokain Gruppe oder der Saline/Saline und der WAY100635/Kokain Gruppe gefunden ($p>0.05$). Bedeutsame Unterschiede wurden zwischen Saline/Kokain und Saline/Saline Gruppe (P6: $p<0.05$) und WAY100635/Saline und Saline/Saline Gruppe (P8-12: $p<0.0001$) gefunden.

3.2.4 Diskussion

3.2.4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In Experiment II konnten auf Verhaltensebene die Ergebnisse aus Experiment I bestätigt werden. Es wurde gefunden, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonist WAY100635 die akuten Verhaltenseffekte von Kokain inhibieren kann. Die Injektion von Kokain (10 mg/kg, i.p.) führte zu einem Anstieg der Lokomotion und des Aufrichtverhaltens. Eine Dosierung von 0.4 mg/kg WAY100635 führte zu einer Verringerung des Kokain-induzierten Anstiegs der Lokomotion und des Aufrichtverhaltens.

Auf der neurochemischen Seite wurde gefunden, dass Kokain parallel zur Hyperaktivität nicht nur im Nac, sondern auch im Hippocampus, zu einem Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration führt. Parallel zur Inhibierung der akuten Kokain-induzierten Hyperaktivität, potenzierte WAY100635 den Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration sowohl im Hippocampus als auch im Nac. Die Applikation von WAY100635 allein führte in beiden Hirnstrukturen zu einer lang anhaltenden, aber nicht bedeutsamen Verringerung der 5-HT-Konzentration. Keine der Behandlungen hatte einen Effekt auf die 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus. Dagegen führte die Injektion von Kokain zu einem lang anhaltenden Abfall und die

Injektion von WAY100635 zu einem lang anhaltenden Anstieg der 5-HIAA-Konzentration im Nac, der durch die Injektion von Kokain geblockt wurde.

3.2.4.2 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus und die Verhaltenseffekte von Kokain

In Experiment II konnten die in Experiment I gefundenen Effekte einer 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade auf Kokain-induzierte Hyperaktivität auch mit einem leicht veränderten Versuchsprotokoll repliziert werden. Die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors führte erneut zu einer Inhibierung des Kokain-induzierten Anstiegs der Lokomotion und des Aufrichtverhaltens. Die geringere, aber immer noch deutliche Verhaltensaktivierung nach Kokain im Vergleich zu Experiment I ist möglicherweise auf das modifizierte Versuchsprotokoll zurückzuführen. Für eine verlässliche Messung von 5-HT war es nötig, die Dialysesonden am Messtag selbst einzusetzen, was die Erholungszeit im Vergleich zu Experiment I verkürzte, in dem die Dialysesonden für die DA-Analyse bereits am Tag vor den Messungen eingesetzt wurden. Für eine dennoch ausreichende funktionale Erholung sprach jedoch, dass spätestens 2 Stunden nach Einsetzen der Sonden eine stabile Ausgangskonzentration 5-HT und 5-HIAA in den Dialyseproben zu beobachten war.

3.2.4.3 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus und die Effekte von Kokain im serotonergen System

In Experiment II konnte erstmals gezeigt werden, dass Kokain, parallel zu einer Verhaltensaktivierung, auch zu einem Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Hippocampus führt. Dieses Ergebnis soll hier im Zusammenhang mit den akuten Verhaltenseffekten von Kokain diskutiert werden. Da 5-HT aber auch eine bedeutende Rolle bei neuronaler Plastizität spielt (Kandel, 2001), könnte der akute Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration nach Kokain in einer Hirnregion, die vornehmlich mit Lernen und Gedächtnis, aber auch mit der Suppression von Verstärkereffekten assoziiert wird, auch für die langfristigen Verhaltenseffekte von Kokain von Bedeutung sein. Verschiedene Autoren interpretieren die lang anhaltenden Veränderungen im Verhalten nach chronischem Drogenkonsum, wie z.B. Drogen-Selbstapplikation oder konditionierte Platzpräferenz, als Fehladaptationen des Belohnungs- und Gedächtnissystems.

Induziert werden diese sehr löschungsresistenten Gedächtnisinhalte möglicherweise durch eine neurochemische Überstimulation bestehender Belohnungs- und Gedächtnissysteme (Berke & Hyman, 2000). Ein Anstieg in der serotonergen Aktivität im Hippocampus ist dabei möglicherweise ein denkbarer Mechanismus, der zu lang anhaltenden funktionalen Veränderungen auf zellulärer Ebene führen kann. Die Beteiligung des Hippocampus an dem Auslösen von Kokain-Suchverhalten konnte von Vorel et al. (2001) nachgewiesen werden.

Ein Kokain-induzierter Anstieg der 5-HT-Konzentration im Nac war schon mehrfach beschrieben worden (Parsons & Justice, 1993; Essman et al., 1994; Teneud et al., 1996; Andrews & Lucki, 2001) und konnte auch in diesem Experiment bestätigt werden. Sowohl der Kokain-induzierte 5-HT-Anstieg im Hippocampus als auch der im Nac wurden durch 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus potenziert. Ein möglicher Mechanismus für die beobachteten neurochemischen Effekte könnte über somatodendritische 5-HT_{1A}-Autorezeptoren im Bereich der DRN/MRN Neurone mediiert sein. Kokain ist ein potenter Wiederaufnahmehemmer für 5-HT, DA und NA (Ritz et al., 1990), mit einer etwas größeren Affinität für 5-HT als für DA (Koe, 1976). Im somatodendritischen Bereich serotonerger Neurone führt der dadurch induzierte Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration (Parsons & Justice, 1993; Reith et al., 1993) zu einer vermehrten Aktivierung inhibitorischer 5-HT_{1A}-Autorezeptoren, was zu einer Verringerung in der Feuerfrequenz serotonerger Neurone führt (Pitts & Marwah, 1986, 1987; Lakoski & Cunningham, 1988; Rutter et al., 1995). Eine Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors mit WAY100635 könnte die Effekte einer somatodendritisch erhöhten extrazellulären 5-HT-Konzentration verringern (Cunningham & Lakoski, 1990; Fornal et al., 1994). Es würde zu einer abgeschwächten Inhibierung der Feuerfrequenz serotonerger Neurone nach Kokain-Gabe kommen. In diesem Fall würden sich die Effekte einer lokalen Kokain-induzierten 5-HT-Wiederaufnahmehemmung in den Terminalgebieten serotonerger Projektionen zu den Effekten des 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus im somatodendritischen Bereich aufaddieren und eine Potenzierung des 5-HT-Anstiegs nach Kokain in den Terminalgebieten induzieren. Ein vergleichbarer zeitlicher Verlauf der extrazellulären 5-HIAA-Konzentration zwischen Saline/Kokain und WAY100635/Kokain Gruppe, sowohl im Hippocampus als auch im Nac, macht eine veränderte 5-HT-Syntheserate als möglichen Faktor für die Potenzierung des 5-HT-Anstiegs nach Kokain unwahrscheinlich (Wolf et al., 1985; Cumming et al., 1992). In

Abbildung 13 ist ein Schema dieses hypothetischen neurochemischen Mechanismus dargestellt. Das Schema und der vorgeschlagene neurochemische Mechanismus sind auch auf die Potenzierung des SSRI-induzierten 5-HT-Anstiegs im Hippocampus durch WAY100635 (Invernizzi et al., 1997; Hervas & Artigas, 1998) und andere 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonisten (Hjorth, 1993; Hervas et al., 2000) anwendbar. Das vorgeschlagene neurochemische Funktionsmodell basiert hauptsächlich auf der Blockade von 5-HT_{1A}-Autorezeptoren, die eine höhere Sensitivität besitzen als postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren (Sprouse & Aghajanian, 1988). Die Beteiligung postsynaptischer 5-HT_{1A}-Rezeptoren an den beobachteten Effekten von WAY100635 auf den Kokain-induzierten 5-HT-Anstieg im Hippocampus und Nac kann jedoch beim gegenwärtigen Stand der Forschung nicht ausgeschlossen werden.

Im Gegensatz zur dopaminergen Transmission im Nac, ist die serotonerge Antwort nach Kokain im Nac und im Hippocampus nach der Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors deutlich verändert und könnte damit ein möglicher neurochemischer Mechanismus für die durch 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus induzierte Inhibierung der Hyperaktivität nach Kokain sein. Bisher wurde vorrangig der Nac und seine dopaminerge Innervierung mit den Verhaltenseffekten von Kokain in Verbindung gebracht (Kelly & Iversen, 1976; Delfs et al., 1990; Ikemoto, 2002). Da die Dichte der 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Nac aber gering ist, scheint es wahrscheinlicher, dass die beobachteten Verhaltenseffekte innerhalb jener Nac-Afferenzen mediiert werden, die nicht nur an der Generierung lokomotorischer Aktivität beteiligt sind, sondern auch eine hohe Dichte von 5-HT_{1A}-Rezeptoren aufweisen. Das ist der Fall für den Hippocampus (Verge et al. 1986; Pompeiano et al., 1992). Es konnte gezeigt werden, dass die pharmakologische Stimulierung des Hippocampus mit N-methyl-D-Aspartat (NMDA) zu einem Anstieg der Lokomotion führt (Wu & Brudzynski, 1995; Brudzynski & Gibson, 1997), während eine Hemmung mit GABA_A-Agonisten die lokomotorische Aktivität reduziert (Bast et al., 2001b). Die Aktivität der Prinzipalzellen im Hippocampus wird von GABAergen Interneuronen kontrolliert (Freund & Antal, 1988; Freund et al., 1990). Der beobachtete Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration nach Kokain führt sehr wahrscheinlich auch zu einer Aktivierung postsynaptischer 5-HT_{1A}-Rezeptoren und damit zu einer Inhibierung der GABAergen Interneurone (Gulyas et al., 1999). Eine verringerte GABAerge Hemmung der Prinzipalzellen führt wiederum zu einem Anstieg der Aktivität hippocampaler

Projektionen (Gulyas et al., 1999), was auch zu einer erhöhten Aktivität der Hippocampus-Nac Projektion (Yang & Mogenson, 1984; Boeijinga et al., 1993) und zu einer erhöhten DA-Ausschüttung im Nac (Brudzynski & Gibson, 1997; Legault et al., 2000) führt. Diese ist wiederum mit einem Anstieg der Lokomotion assoziiert. Wenn der 5-HT_{1A}-Rezeptor jedoch pharmakologisch blockiert ist, kann möglicherweise auch eine potenzierte extrazelluläre 5-HT-Konzentration keine Aktivierung der hippocampalen 5-HT_{1A}-Rezeptoren bewirken. Die Hemmung der Aktivität GABAerger Interneurone ist damit schwächer, was auch eine schwächere Aktivität der Prinzipalzellen und damit der Hippocampus-Nac Projektion bedeuten würde. Eine gegenüber alleiniger Kokain-Gabe reduzierte lokomotorische Aktivität wäre die Folge (siehe aber auch: Boulenguez et al., 1996). Eine verringerte Aktivierung der glutamatergen Hippocampus-Nac Projektion nach Kokain wäre dann mit der Applikation von Glutamat-Antagonisten in den Nac vergleichbar, die ebenfalls zu einer verringerten lokomotorischen Aktivierung nach Kokain führt (Pulvirenti et al., 1989, 1991).

Eine alternative bzw. ergänzende Erklärung, wie eine 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade und/oder die potenzierte 5-HT-Konzentration im Nac die akute Kokain-induzierte Hyperaktivität blockiert, könnte eine Dissoziation von 5-HT- und DA-Anstieg (siehe Experiment I) im Nac sein. Diese Vermutung wird durch ein Experiment von Morrow & Roth (1996) gestützt, die zeigen konnten, dass eine Läsion des serotonergen Systems mit 5,7-Dihydroxytryptamin nicht nur zu einer verringerten 5-HT-Konzentration im Nac, sondern auch zu einer potenzierten lokomotorischen Aktivität nach Kokain, führt. Dieser Befund würde einen inhibitorischen Effekt für 5-HT bei akuter Kokain-induzierter Hyperaktivität nahe legen. Ein spekulativer Mechanismus für die beobachteten Verhaltenseffekte könnte auch sein, dass die potenzierte 5-HT-Konzentration im Hippocampus und Nac die Wirkung einer sehr hohen Dosis Kokain innerhalb des serotonergen Systems nachahmt. Diese Erklärung ist jedoch eher unwahrscheinlich, da bei keinem Tier Anzeichen für Verhaltensstereotypen beobachtet wurden, so wie sie für hohe Dosen Kokain charakteristisch sind (siehe 1.1.4.2.). Die Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei den akuten Verhaltenseffekten von Kokain scheint aber nicht auf die bloße Potenzierung der 5-HT-Konzentration nach Kokain-Gabe reduzierbar zu sein. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass eine selektive Potenzierung der serotonergen Aktivität durch Vorbehandlung mit einem

SSRI zu einer Erhöhung der lokomotorischen Aktivität nach Kokain (Herges & Taylor, 1998) und zu einem potenzierten DA-Anstieg im Nac führt (Bubar et al., 2003).

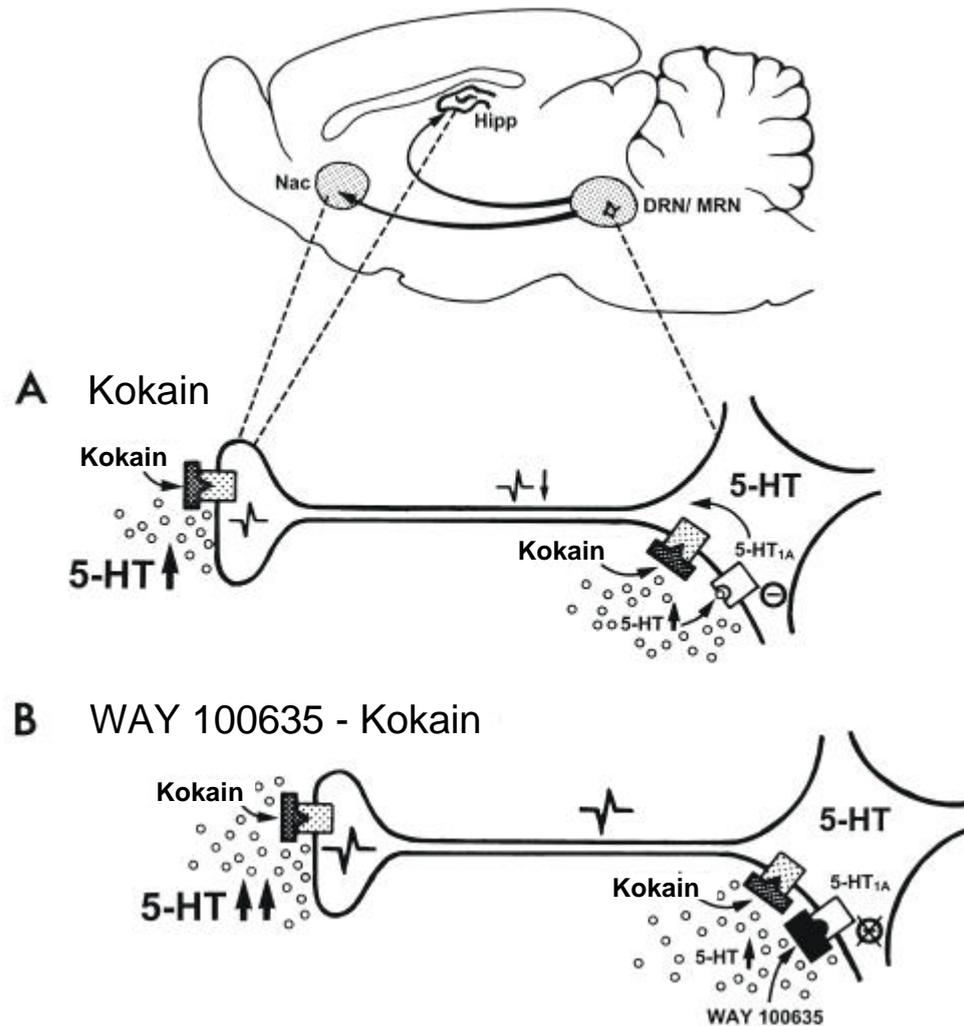


Abb. 13 Hypothetisches Schema für die Potenzierung des Kokain-induzierten Anstiegs der extrazellulären Serotonin (5-HT)-Konzentration im Hippocampus (Hipp) und Nucleus accumbens (Nac) durch den 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonisten WAY100635 an den serotonergen Neuronen im Nucleus raphe´ dorsalis und medianus (DRN/MRN). **A:** Kokain induziert einen Anstieg der terminalen und somatodendritischen 5-HT-Konzentration durch Blockade der 5-HT-Wiederaufnahme am 5-HT-Transporter (hellgraue Kästchen). Ein erhöhter somatodendritischer 5-HT-Level führt zu einer stärkeren Aktivierung der somatodendritischen 5-HT_{1A}-Autorezeptoren (weiße Kästchen). Diese wirken inhibitorisch und reduzieren die Feuerfrequenz der serotonergen Neurone. **B:** Bei vorheriger Applikation des 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonisten WAY100635 bewirkt der Kokain-induzierte Anstieg im 5-HT in der somatodendritischen Region weniger 5-HT_{1A}-Autorezeptor mediierte Hemmung der serotonergen Feuerfrequenz. Die terminalen Effekte von Kokain sind wahrscheinlich nicht verändert, da terminale 5HT-Autorezeptoren nicht vom 5-HT_{1A}-Typ sind. Nach WAY100635-Kokain Behandlung addiert sich eine – im Vergleich zu Kokain allein – erhöhte Feuerfrequenz serotonerger Neurone zur terminalen Wiederaufnahmehemmung für 5-HT. Daraus resultiert eine Potenzierung des Kokain-induzierten 5-HT-Anstiegs im Hippocampus und Nac.

3.2.4.4 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus und spontanes Verhalten

Die Injektion von WAY100635 hatte in diesem Experiment keinen Effekt auf die Lokomotion und das Aufrichtverhalten, was die Ergebnisse von Experiment I bestätigt.

3.2.4.5 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonismus und das serotonerge System

Die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors führte zu einem leichten, aber nicht bedeutsamen Abfall der 5-HT-Konzentration im Hippocampus und im Nac. Andere Autoren fanden keinen Effekt für WAY100635 (0.0025-0.16 mg/kg i.p., Assie & Koek, 1996; 0.3 mg/kg s.c., Hervas et al., 2000) oder ebenfalls einen geringen Abfall (0.3 mg/kg s.c., Hjorth et al., 1997) im Hippocampus. Diese Befunde stehen entgegen der Erwartung, dass die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Autorezeptors zu einer verringerten Hemmung serotonerger Neurone und damit zu einer erhöhten Feuerfrequenz und terminalen 5-HT-Ausschüttung führen. Neuere Ergebnisse zeigen allerdings, dass WAY100635 die Aktivität serotonerger Neurone hemmt, indem es zu einer Verringerung der Aktivität eines tonisch exzitatorischen Eingangs aus dem Locus coeruleus führt (Blier et al., 2001; Szabo & Blier, 2001). Obwohl die genauen Mechanismen weiter unbekannt sind, unterstützen die in diesem Experiment gefundenen Tendenzen die Annahme, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptor auch an der Regulierung der basalen 5-HT-Konzentration im Hippocampus und Nac beteiligt ist. Der lang anhaltende Anstieg der 5-HIAA-Konzentration nach WAY100635 im Nac lässt zudem auf eine inhibitorische Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei der Regulierung der 5-HT-Synthese im Nac, aber nicht im Hippocampus schließen.

3.3 Experiment III

3.3.1 Einleitung

Die Ergebnisse aus den beiden vorangegangenen Experimenten legen nahe, dass die Inhibierung der akuten Hyperaktivität nach Kokain-Gabe durch die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors durch einen serotonergen und nicht durch einen dopaminergen Mechanismus mediiert wird. Die 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade führte dabei zu einem potenzierten Anstieg der 5-HT-Konzentration nach Kokain-Gabe im Nac und Hippocampus. Daraus wurde die Hypothese abgeleitet, dass möglicherweise der Kokain-induzierte 5-HT-Anstieg innerhalb der Hippocampus-Nac-Projektion inhibitorisch auf die akute Verhaltensaktivierung nach Kokain wirkt. De La Garza & Cunningham (2000) und Carey et al. (2002) hatten gefunden, dass die pharmakologische Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors mit dem 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten 8-OH-DPAT (Hjorth et al., 1982) zu einer Potenzierung der lokomotorischen Aktivierung nach Kokain-Gabe führt. Sollte tatsächlich der 5-HT-Anstieg im Nac und Hippocampus einen inhibitorischen Effekt auf die akute Hyperaktivität nach Kokain haben, müsste eine Potenzierung der akuten Kokain-induzierten Hyperaktivität mit einem verminderten Kokain-induzierten 5-HT-Anstieg einhergehen. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurde Experiment III durchgeführt, in dem die Effekte einer pharmakologischen 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung mit 8-OH-DPAT auf die Verhaltensaktivität nach Kokain-Gabe und den zeitlichen Verlauf der 5-HT- und 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus und Nac untersucht werden sollten. Um zusätzlich einen Index für die DA-Syntheseaktivität zu messen und so die Vergleichbarkeit mit Experiment I zu gewährleisten, sollte auch die DOPAC-Konzentration im Nac erfasst werden.

3.3.2 Spezielle Methoden

Die Versuchsdurchführung entsprach der von Experiment II. Eine Woche vor Beginn der in-vivo Mikrodialyse Messungen wurden jedem Tier zwei Führungskanülen, jeweils eine in den Nac und eine in den ventralen Hippocampus, implantiert. Die Führungskanüle in den Nac wurde in einem Winkel von +/- 10° mit den Koordinaten: anterior: +1.6 mm, lateral: +/-2.6 mm, ventral: -5.8 mm (Referenz: Bregma, Paxinos & Watson, 1986) implantiert. Die Koordinaten für die Führungskanüle im Hippocampus waren: anterior: -5.6 mm, lateral: +/-4.8 mm, ventral: -3.2 mm (Referenz: Bregma,

Paxinos & Watson, 1986). Auch in Experiment III wurde spätestens 2 Stunden nach Einsetzen der Dialysesonden in jedem Tier eine stabile Ausgangslagekonzentration 5-HT, 5-HIAA und DOPAC beobachtet.

Während des Experiments erfolgte die Probennahme alle 30 Minuten (Probenintervall). Zunächst wurden wiederum 3 Ausgangslage Proben genommen. Dem folgte eine i.p. Injektion mit entweder 0.2 mg/kg 8-OH-DPAT (8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin; Sigma) oder mit Saline. Nach einem weiteren Probenintervall erhielt jedes Tier eine zweite i.p. Injektion mit entweder 10 mg/kg Kokain oder Saline. Die verwendeten Konzentrationen 8-OH-DPAT und Kokain wurden den Arbeiten von De La Garza & Cunningham (2000) und Carey et al. (2002) entnommen und entsprachen für Kokain denen aus Experiment I und II. Sowohl 8-OH-DPAT als auch Kokain wurden für die i.p. Applikation in Saline gelöst. Alle Injektionen wurden in einem Volumen von 1 ml/kg i.p. verabreicht. Nach der zweiten i.p. Injektion wurde noch 8 Intervalle lang, d.h. für 240 Minuten, gemessen. Alle Mikrodialyse Proben wurden mittels HPLC-EC auf ihren Gehalt an 5-HT, 5-HIAA und DOPAC untersucht.

3.3.3 Ergebnisse

3.3.3.1 Histologie

Die Lokalisation der Mikrodialysesonden innerhalb des Hippocampus und des Nac ist in Abbildung 14 dargestellt. Die Dialysesonden eines Tieres waren nicht in den entsprechenden Hirngebieten lokalisiert, weshalb dieses Tier von der weiteren Auswertung ausgeschlossen wurde. Die Dialysesonden aller anderen Tiere waren im Hippocampus und Nac lokalisiert. Bei einigen Tieren kam es zu einem unilateralen Verlust der Dialysesonden (Verstopfung der Silica-Kapillare).

3.3.3.2 Verhalten

Die Injektion von Saline/Kokain (n=8) induzierte einen bedeutsamen Anstieg der Lokomotion ($F_{11,77}=2.27$, $p<0.05$; Abb. 15), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.05$). Die Injektion von 8-OH-DPAT/Kokain (n=10) führte ebenfalls zu einem Anstieg der Lokomotion ($F_{11,99}=7.28$, $p<0.0001$), der bereits im Intervall nach der 8-OH-DPAT-Injektion (P4) begann und im Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum

erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.001$). Dieser Anstieg war zudem deutlich größer als in der Saline/Kokain Gruppe. Die Injektion von 8-OH-DPAT/Saline ($n=7$) induzierte ebenfalls einen bedeutsamen Anstieg der Lokomotion in diesem Experiment ($F_{11,66}=3.48$, $p < 0.001$), der im Intervall nach der 8-OH-DPAT-Injektion (P4) begann und sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P4: $p < 0.001$). Die Injektion von Saline/Saline ($n=9$) hatte keinen Effekt auf die Lokomotion ($p > 0.05$).

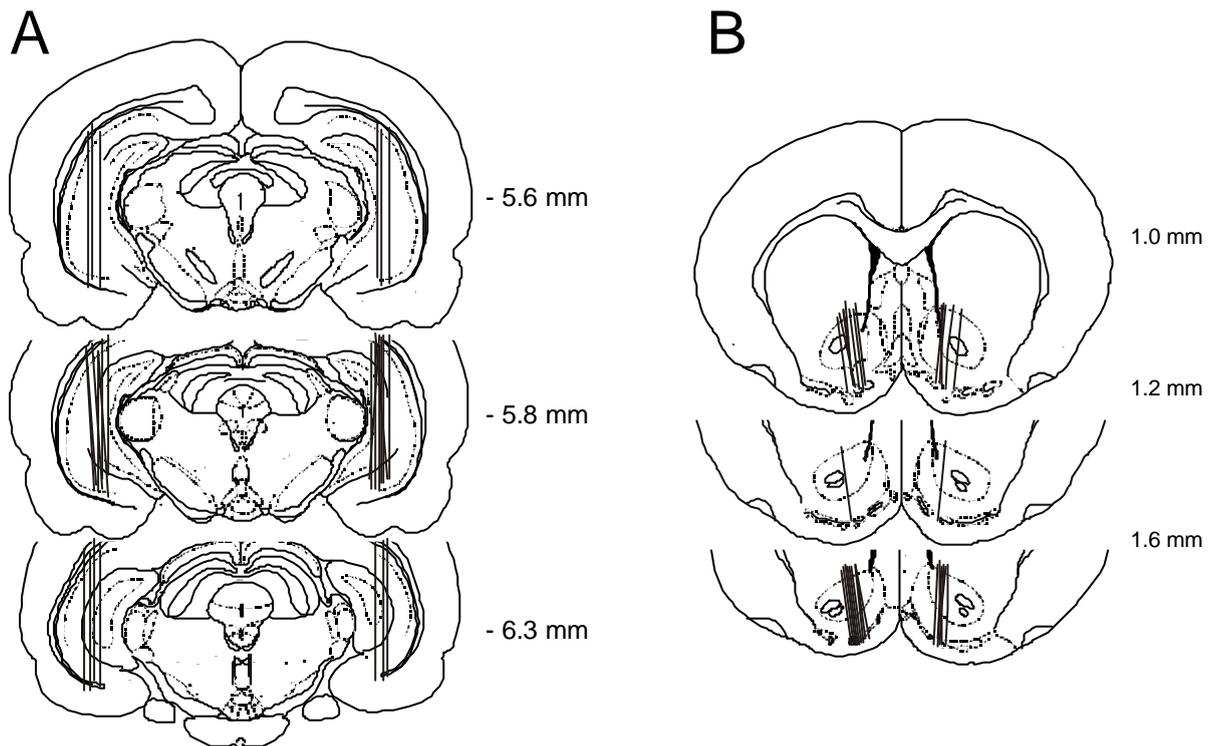
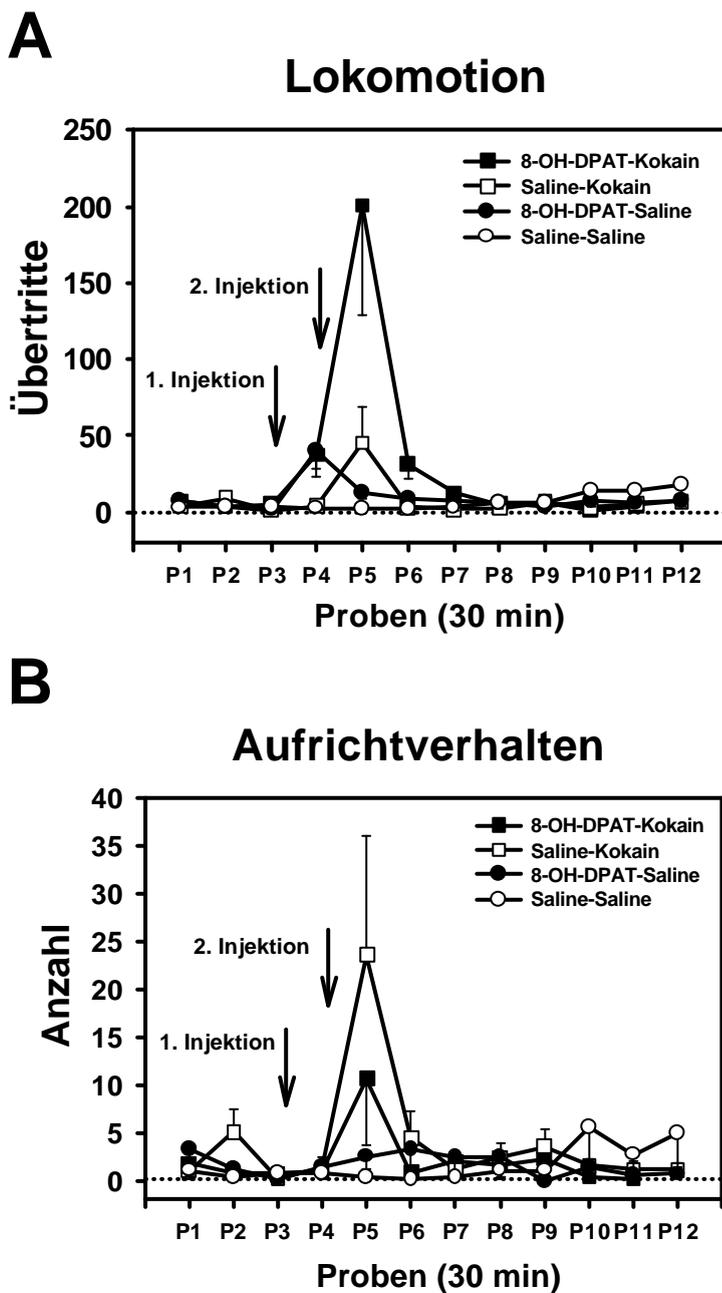


Abb. 14 Lokalisation der Mikrodialysesonden (aktive Membranfläche) in Koronalschnitten des Rattenhirns nach Paxinos & Watson (1986). Die Zahlen zeigen den Abstand von Bregma an.

Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,330}=6.52$, $p < 0.0001$), Behandlung ($F_{3,30}=4.39$, $p < 0.05$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,330}=4.59$, $p < 0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied in der Lokomotion zwischen der Saline/Kokain und der 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5: $p < 0.0001$). Kein bedeutsamer Unterschied fand sich dagegen zwischen 8-OH-DPAT/Saline und Saline/Saline Gruppe. Diese Analyse wird zudem durch die Feinanalyse der Lokomotion (Abb. 16) bestätigt, die zeigt, dass der Anstieg

der Lokomotion nach der Kokain-Injektion in der 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe deutlich größer und auch länger anhaltend ist, als der in der Saline/Kokain Gruppe. Die Feinanalyse der Lokomotion in Intervall P4 zeigt zudem, dass 8-OH-DPAT sowohl in der 8-OH-DPAT/Kokain als auch in der 8-OH-DPAT/Saline Gruppe zu einem Anstieg der Lokomotion führt, der aber am Ende des Messintervalls P4 wieder auf dem Niveau der Saline/Kokain und Saline/Saline Gruppe ist.



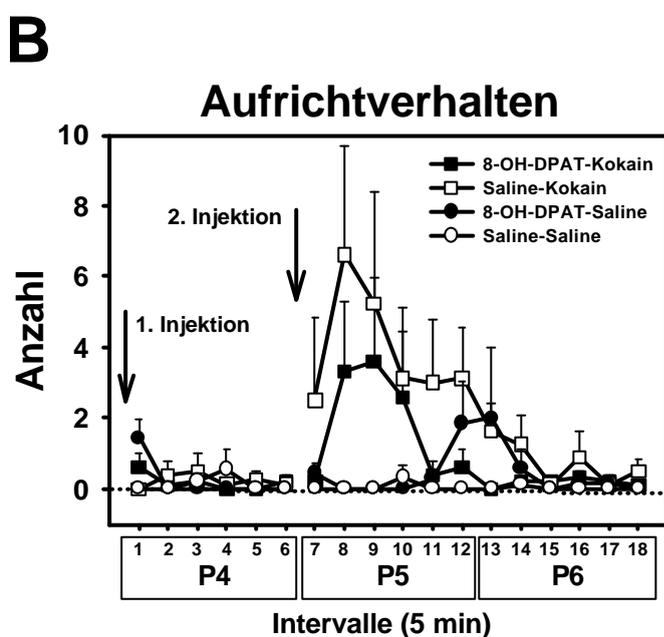
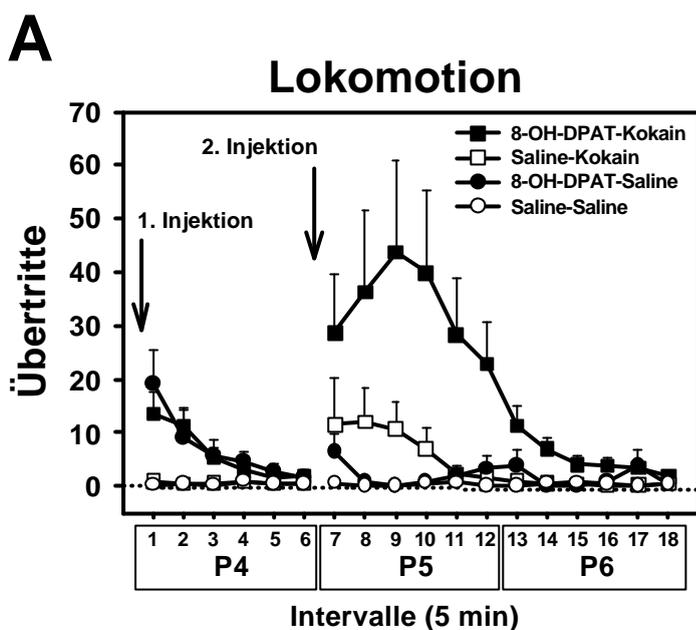


Abb. 16 Feinanalyse von Lokomotion (A) und Aufrichtverhalten (B) nach Behandlung mit entweder 8-OH-DPAT (0.2 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9 %iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, 8-OH-DPAT-Saline oder Saline-Saline. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler für jede Behandlungsgruppe in Intervallen von 5 Minuten innerhalb der 3 Probenintervalle P4-P6. Pfeile zeigen den Zeitpunkt der 2. i.p. Injektionen an.

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen bedeutsamen Anstieg im Aufrichtverhalten ($F_{11,77}=2.93$, $p<0.01$; Abb. 15), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.01$). Die Injektion von 8-OH-DPAT/Kokain führte ebenfalls zu einem Anstieg im Aufrichtverhalten, der jedoch nicht bedeutsam war ($p>0.05$). Weder die Injektion von 8-OH-DPAT/Saline noch die von Saline/Saline hatte einen Einfluss auf das Aufrichtverhalten ($p>0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für den Faktor Probenintervalle ($F_{11,330}=3.60$, $p<0.0001$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,330}=1.89$, $p<0.01$). Post hoc Tests für die Interaktion

zeigten einen bedeutsamen Unterschied im Aufrichtverhalten lediglich zwischen der Saline/Kokain und der Saline/Saline Gruppe im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5: $p < 0.0001$). Die Feinanalyse des Aufrichtverhaltens (Abb. 16) zeigt, dass der Anstieg im Aufrichtverhalten nach der Kokain-Injektion in der Saline/Kokain Gruppe deutlich größer, jedoch nicht länger anhaltend, ist, als der in der 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe.

3.3.3.3 Neurochemie

Der Ausgangslagewert der 5-HT-Konzentration betrug im Mittel 5.1 ± 0.4 pg/45 μ l im Hippocampus und 3.8 ± 0.3 pg/45 μ l im Nac. Der Ausgangslagewert der 5-HIAA-Konzentration betrug im Mittel 834.5 ± 48.6 pg/45 μ l im Hippocampus und 1179.9 ± 60.7 pg/45 μ l im Nac. Der Ausgangslagewert der DOPAC-Konzentration betrug im Mittel 2990.2 ± 188.8 pg/45 μ l im Nac. Im Hippocampus konnte DOPAC nicht verlässlich detektiert werden. Weder für die 5-HT-, die 5-HIAA- noch für die DOPAC-Konzentration im Hippocampus und im Nac wurde ein bedeutsamer Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen in der Ausgangslage beobachtet (Hippocampus und Nac: $p > 0.05$).

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen bedeutsamen Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus ($F_{11,66} = 12.97$, $p < 0.0001$; Abb. 17), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.001$, P6: $p < 0.05$). Die Injektion von 8-OH-DPAT/Kokain führte ebenfalls zu einem Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus nach der Kokain-Injektion ($F_{11,88} = 2.41$, $p < 0.05$), der deutlich kleiner war als in der Saline/Kokain Gruppe, sich jedoch nicht bedeutsam von der Ausgangslage unterschied (Tukey's Test, $p > 0.05$). Die Injektion von 8-OH-DPAT/Saline führte zu einem lang anhaltenden Abfall der 5-HT-Konzentration im Hippocampus ($F_{11,66} = 2.64$, $p < 0.01$), der sich jedoch nicht bedeutsam von der Ausgangslage unterschied (Tukey's Test, $p > 0.05$). Die Injektion von Saline/Saline hatte keinen Effekt auf die 5-HT-Konzentration im Hippocampus ($p > 0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,264} = 8.62$, $p < 0.0001$), Behandlung ($F_{3,24} = 8.94$, $p < 0.001$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,264} = 3.99$, $p < 0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied zwischen

Saline/Kokain und 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe im Intervall nach der Kokain-Injektion (P5: $p < 0.0001$), nicht jedoch zwischen der 8-OH-DPAT/Saline und der Saline/Saline Gruppe ($p > 0.05$).

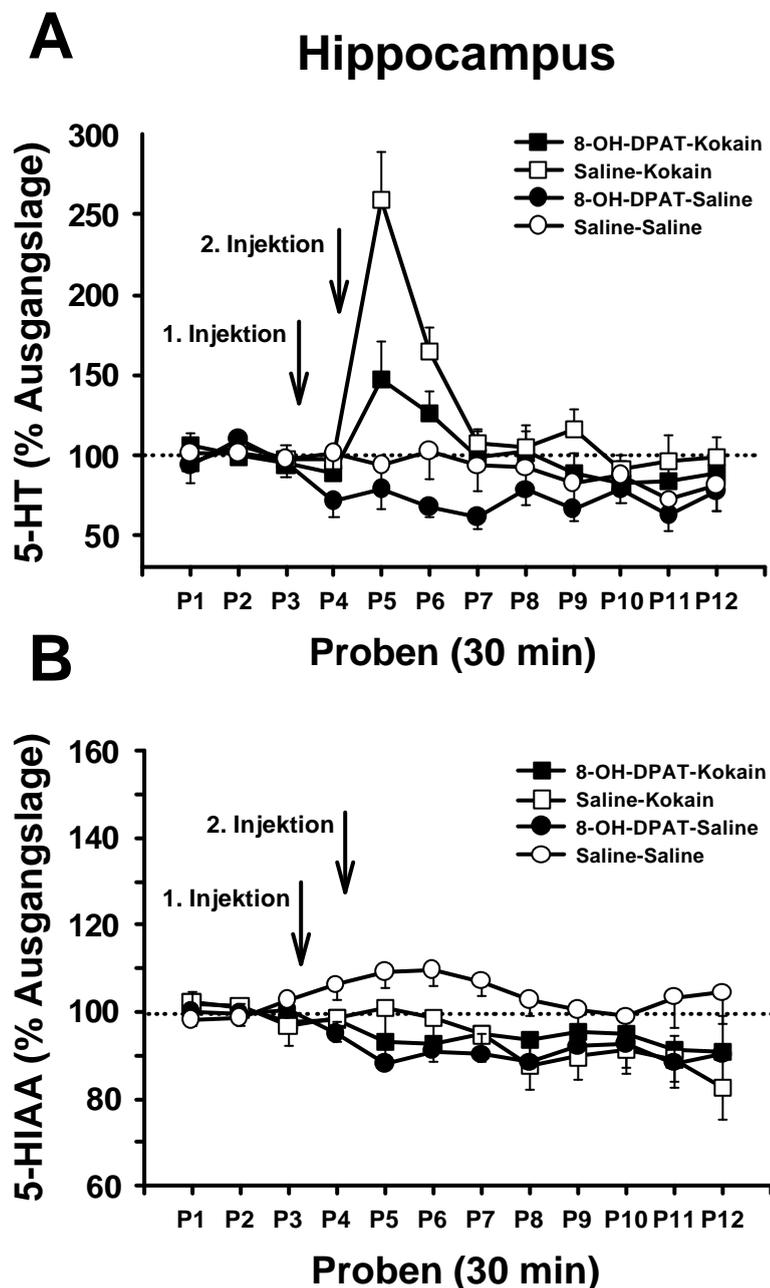


Abb. 17 Serotonin (A)- und 5-HIAA (B)-Konzentrationen im Hippocampus nach Behandlung mit entweder 8-OH-DPAT (0.2 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, 8-OH-DPAT-Saline oder Saline-Saline. Die Konzentrationen sind als Prozentwerte der 3 Ausgangslagewerte (Mittelwerte \pm Standardfehler) für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten dargestellt. Drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgten jeweils 2 i.p. Injektionen (Pfeile) im Abstand von 30 Minuten.

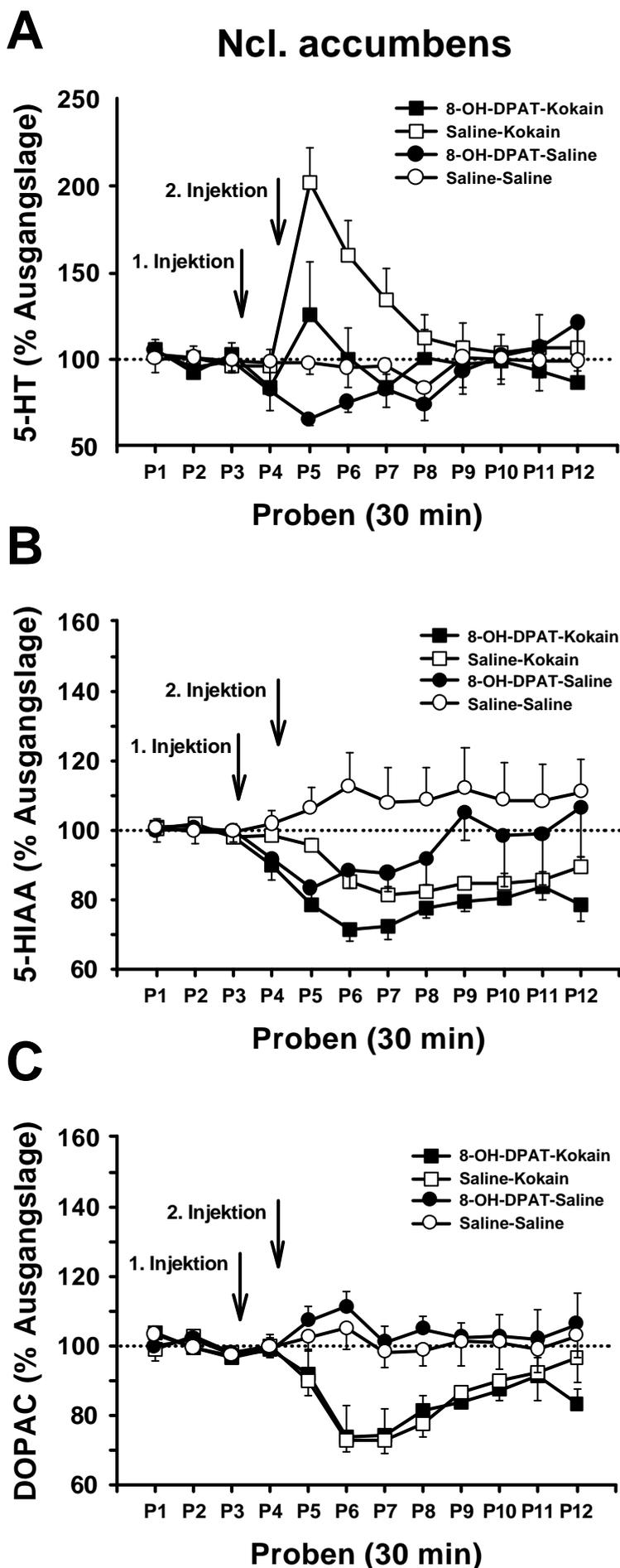


Abb. 18 Serotonin (A)-, 5-HIAA (B)- und DOPAC (C)-Konzentrationen im Nucleus accumbens nach Behandlung mit entweder 8-OH-DPAT (0.2 mg/kg)-Kokain (10 mg/kg), 0.9 %iger Kochsalzlösung (Saline)-Kokain, 8-OH-DPAT-Saline oder Saline-Saline. Die Konzentrationen sind als Prozentwerte der 3 Ausgangslagewerte (Mittelwerte \pm Standardfehler) für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten dargestellt. Drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgten jeweils 2 i.p. Injektionen (Pfeile) im Abstand von 30 Minuten.

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen leichten Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus unter das Ausgangslageniveau ($F_{11,66}=2.95$, $p<0.01$; Abb. 17). Post hoc Tests zeigten jedoch keinen bedeutsamen Effekt im Vergleich zur Ausgangslage ($p>0.05$). Weder die Injektion von 8-OH-DPAT/Kokain, 8-OH-DPAT/Saline noch die von Saline/Saline hatten einen bedeutsamen Effekt auf die extrazelluläre 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus.

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen bedeutsamen Anstieg der 5-HT-Konzentration im Nac ($F_{11,77}=7.32$, $p<0.0001$; Abb. 18), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.01$, P6: $p<0.05$). Die Injektion von 8-OH-DPAT/Kokain führte ebenfalls zu einem leichten, aber nicht bedeutsamen Anstieg der 5-HT-Konzentration im Nac nach der Kokain-Injektion ($p>0.05$), der deutlich geringer war als in der Saline/Kokain Gruppe. Die Injektion von 8-OH-DPAT/Saline führte zu einer leichten Verringerung der 5-HT-Konzentration im Nac, die jedoch nicht bedeutsam war ($p>0.05$). Die Injektion von Saline/Saline hatte keinen Effekt auf die 5-HT-Konzentration im Nac ($p>0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,286}=2.38$, $p<0.01$), Behandlung ($F_{3,26}=3.19$, $p<0.05$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,286}=2.98$, $p<0.01$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied zwischen Saline/Kokain und 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe im Intervall nach der Kokain-Injektion (P5: $p<0.01$) und zwischen Saline/Kokain und Saline/Saline (P5: $p<0.0001$, P6: $p<0.05$), nicht aber zwischen 8-OH-DPAT/Saline und Saline/Saline Gruppe ($p>0.05$).

Die Injektion von Saline/Kokain induzierte einen Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Nac (Abb. 18), der bis zum Ende der Messungen anhielt ($F_{11,77}=21.54$, $p<0.0001$) und sein Minimum in Intervall P7 erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P6-11: $p<0.01$, P12: $p<0.05$). Der stärkste Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Nac wurde in der 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe beobachtet ($F_{11,77}=17.11$, $p<0.0001$), der ebenfalls bis zum Ende der Messungen unterhalb des Ausgangslageniveaus blieb und sein Minimum in Intervall P6 erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5-12: $p<0.05$). Ebenfalls die Injektion von 8-OH-DPAT/Saline führte zu einem Abfall der extrazellulären 5-HIAA-Konzentration im Nac ($F_{11,66}=2.87$, $p<0.01$), die sich jedoch nicht bedeutsam von der Ausgangslage unterschied (Tukey's Test, $p>0.05$). Die Injektion von Saline/Saline führte zu einem leichten, aber nicht bedeutsamen Anstieg der 5-HIAA-Konzentration

im Nac. Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,297}=5.22$, $p<0.01$), Behandlung ($F_{3,27}=5.03$, $p<0.01$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,297}=4.40$, $p<0.01$). Post hoc Tests für die Interaktion zeigten keinen bedeutsamen Unterschied zwischen der Saline/Kokain und der 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($p>0.05$). Bedeutsame Unterschiede wurden zwischen Saline/Kokain und Saline/Saline Gruppe (P6-10: $p<0.01$; P11-12: $p<0.05$) und zwischen 8-OH-DPAT/Saline und Saline/Saline Gruppe (P6: $p<0.05$) gefunden.

Sowohl die Injektion von Saline/Kokain ($F_{11,55}=11.73$, $p<0.0001$) als auch die Injektion von 8-OH-DPAT/Kokain ($F_{11,55}=5.83$, $p<0.0001$) induzierten einen Abfall der DOPAC-Konzentration im Nac (Abb. 18), dessen zeitlicher Verlauf in beiden Gruppen fast deckungsgleich war. Post hoc Tests zeigten bedeutsame Unterschiede im Vergleich zur Ausgangslage in der Saline/Kokain Gruppe (Tukey's Test, P3 vs. P6-8: $p<0.01$) und in der 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe (Tukey's Test, P3 vs. P6-7: $p<0.05$). Weder die 8-OH-DPAT/Saline noch die Saline/Saline Injektion hatten einen bedeutsamen Effekt auf die DOPAC-Konzentration im Nac ($p>0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,253}=5.85$, $p<0.0001$), Behandlung ($F_{3,23}=4.71$, $p<0.01$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,253}=3.58$, $p<0.0001$). Post hoc Tests für die Interaktion zeigten keinen bedeutsamen Unterschied zwischen der Saline/Kokain und 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe oder der 8-OH-DPAT/Saline und der Saline/Saline Gruppe ($p>0.05$). Bedeutsame Unterschiede wurden zwischen Saline/Kokain und Saline/Saline Gruppe (P6-7: $p<0.01$; P8: $p<0.05$) bzw. auch zwischen der 8-OH-DPAT/Kokain und der 8-OH-DPAT/Saline Gruppe gefunden (P6-8: $p<0.01$).

3.3.4 Diskussion

3.3.4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In Experiment III wurde gefunden, dass die pharmakologische Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors zu einer Potenzierung der Kokain-induzierten Hyperlokomotion führt. Dagegen kam es zu einer Verringerung im Kokain-induzierten Aufrichtverhalten. Die Injektion des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten 8-OH-DPAT führte zu einer leichten Erhöhung der lokomotorischen Aktivität. Eine Feinanalyse der Verhaltenseffekte zeigte jedoch, dass diese Aktivierung innerhalb eines

Probenintervalls bereits wieder auf dem Niveau der beiden Saline-injizierten Gruppen lag.

Auf der neurochemischen Seite wurde ein wichtiges Ergebnis aus Experiment II bestätigt, nämlich, dass Kokain parallel zu akuter Hyperaktivität auch zu einem Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Hippocampus führt. Analog zu Experiment II hatte Kokain keinen Effekt auf die extrazelluläre 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus. Der wichtigste neurochemische Befund in Experiment III ist jedoch, dass parallel zu einer Potenzierung der Kokain-induzierten Hyperaktivität der Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration sowohl im Hippocampus als auch im Nac durch pharmakologische 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung inhibiert wurde. Keine der Behandlungen hatte dabei einen Effekt auf die extrazelluläre 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus. Im Nac dagegen potenzierte die 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung tendenziell den Kokain-induzierten Abfall der 5-HIAA-Konzentration. Die pharmakologische Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors hatte keinen Effekt auf die Kokain-induzierte Verringerung der extrazellulären DOPAC-Konzentration im Nac.

3.3.4.2 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus und die Verhaltenseffekte von Kokain

In Experiment III wurde eine Potenzierung der Kokain-induzierten Hyperlokomotion durch 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus gefunden. Die Feinanalyse der Lokomotion nach 8-OH-DPAT-Injektion konnte deutlich zeigen, dass der allein durch 8-OH-DPAT induzierte Anstieg in der Lokomotion innerhalb der 30 Minuten eines Probenintervalls wieder auf dem Niveau der Saline Gruppen war. Wichtig für die Interpretation der Effekte auf die Kokain-induzierte Hyperaktivität ist, dass zum Zeitpunkt der Kokain-Injektion alle Behandlungsgruppen eine vergleichbare lokomotorische Aktivität aufwiesen. Die Effekte einer 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung auf Kokain-induzierte Hyperaktivität sind damit keine summativen oder subtraktiven Effekte, sondern durch eine Interaktion bedingt.

Die Verhaltensbefunde aus Experiment III bestätigen die Ergebnisse von De La Garza & Cunningham (2000) und Carey et al. (2001). De La Garza & Cunningham (2000) fanden in ihrer Studie zudem, dass die beobachtete Potenzierung Kokain-induzierter Hyperlokomotion nur in der Peripherie des Offenfeldes und nicht im zentralen Bereich zu beobachten war, wobei diese Autoren ein Offenfeld mit einer Grundfläche von 40 x 40 cm benutzten, bei der die äußeren 16 cm als Peripherie

gewertet wurden. Das hier verwendete Offenfeld hatte eine Grundfläche von 29 x 29 cm. Die Peripherie des in der Studie von De La Garza & Cunningham (2000) benutzten Offenfeldes entsprach bezüglich des Abstandes von den Seitenwänden etwa der hier verwendeten gesamten Offenfeld-Größe. Andere Autoren fanden aber auch gegenteilige Effekte einer 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung auf die akute Hyperlokomotion nach Kokain. Przegaliński & Filip (1997) berichteten eine Abschwächung Kokain-induzierter Hyperlokomotion durch 8-OH-DPAT. Allerdings wurde in dieser Studie, im Vergleich zu allen anderen Studien, nur eine geringe Dosis Kokain (5mg/kg, i.p.) getestet und die Autoren verwendeten ein 40 x 40 cm großes Offenfeld, bei dem nicht zwischen peripherer und zentraler lokomotorischer Aktivität differenziert wurde. Wichtig dabei scheint auch zu sein, ob die untersuchten Tiere bereits an das Offenfeld gewöhnt, d.h. habituiert, waren oder ob das Offenfeld nach den jeweiligen Injektionen für die Tiere eine ganz neue Umgebung darstellte. In Experiment III kann von einer Habituation der Tiere an die Testbox ausgegangen werden, so wie auch in den Experimenten von De La Garza & Cunningham (2000) und Carey et al. (2001), nicht jedoch in der Studie von Przegaliński & Filip (1997). Wesentliche Unterschiede in der getesteten Dosis, in der Größe des verwendeten Offenfeldes (bzw. in dessen Unterteilung) und in der Habituation der Tiere vor dem Testen, könnten daher die Ursache für die unterschiedlichen Verhaltensbefunde sein. Generell kann davon ausgegangen werden, dass ein Offenfeld mit einer größeren Grundfläche auch stärker Angst-geladen ist als ein Offenfeld mit einer kleinen Grundfläche (Carli et al., 1989). Bei der Untersuchung der Verhaltenseffekte von Kokain kann das eine bedeutende Rolle spielen, da bekannt ist, dass Kokain auch anxiogene Effekte haben kann (Costall et al., 1989; Yang et al., 1992).

In Experiment III wurde gefunden, dass 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung die Hyperlokomotion nach Kokain potenziert, jedoch Kokain-induziertes Aufrichtverhalten abschwächt. Die Beobachtung, dass 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus nicht alle Kokain-induzierten Verhaltenseffekte potenziert, bestätigt wiederum die Befunde von De La Garza & Cunningham (2000), steht aber scheinbar im Kontrast zu den Beobachtungen aus Experiment I und II, die gezeigt haben, dass die Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors sowohl den Anstieg in der Lokomotion als auch im Aufrichtverhalten nach Kokain-Gabe inhibieren kann. Möglicherweise kommt es aber im Falle der 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung zu einer Verhaltens-Kompetition nach der Kokain-Gabe, d.h. die sehr hohe lokomotorische Aktivität nach 8-OH-DPAT/Kokain

unterdrückt eine gleichzeitige Potenzierung im Aufrichtverhalten (Tricklebank et al., 1986). Ein alternativer Mechanismus könnte aber auch in der unterschiedlichen Affinität von WAY100635 (Experiment I und II) und 8-OH-DPAT zum 5-HT_{1A}-Rezeptor (Hjorth et al., 1982; Fletcher et al., 1996) bzw. auch in der geringen Affinität zu anderen 5-HT-Rezeptoren (Barnes & Sharp, 1999) begründet sein.

3.3.4.3 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus und die Effekte von Kokain im serotonergen System

Der wichtigste Befund in Experiment III ist, dass eine 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung, parallel zur Potenzierung der Kokain-induzierten Hyperaktivität, den Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Hippocampus und im Nac abschwächt. Damit entsprechen die neurochemischen Ergebnisse in Experiment III den Erwartungen, die aus Experiment II abgeleitet wurden. Die Ergebnisse unterstützen auch den in Experiment II vorgeschlagenen neurochemischen Mechanismus. Es ist bekannt, dass 8-OH-DPAT an inhibitorischen 5-HT_{1A}-Autorezeptoren im Bereich der Raphe´ Nuclei bindet (Gozlan et al., 1983) und damit die Feuerfrequenz serotonerger Neurone verringert (Hjorth et al., 1982; Sprouse & Aghajanian, 1988). Die inhibitorischen Effekte, die ein Kokain-induzierter Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Bereich der Soma und der Dendriten serotonerger Neurone hat, würden durch eine zusätzliche 5-HT_{1A}-Autorezeptor Aktivierung noch verstärkt werden. Diese Annahme wird durch die Beobachtung gestützt, dass 8-OH-DPAT den Kokain-induzierten Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Nac tendenziell noch verstärkt, was als zusätzliche Verringerung der von der Feuerfrequenz abhängigen 5-HT-Syntheserate (Hjorth & Magnusson, 1988) interpretiert werden kann (Wolf et al., 1985; Cumming et al., 1992). Interessant dabei ist die scheinbar unterschiedliche Koppelung der 5-HT-Syntheserate an die Feuerfrequenz oder direkt an den 5-HT_{1A}-Rezeptor zwischen der serotonergen Innervierung des Hippocampus und des Nac. Unterschiedliche Effekte einer 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung zwischen DRN und MRN, den jeweiligen Hauptursprungsgebieten der serotonergen Innervierung des Nac und des Hippocampus, wurden auch von anderen Autoren gefunden (Sinton & Fallon, 1988; Blier et al., 1990; Casanovas & Artigas, 1996; Herges & Taylor, 1999a, 1999b). Der Effekt einer 5-HT-Wiederaufnahmehemmung durch pharmakologische Blockade des SERT auf die extrazelluläre 5-HT-Konzentration in den

Terminalgebieten hängt essentiell von der Feuerfrequenz der serotonergen Neurone ab. Bei einer - im Vergleich zu Kokain allein - weiter verringerten Feuerfrequenz sollte deshalb ein Anstieg der Kokain-induzierten extrazellulären 5-HT-Konzentration im Hippocampus und im Nac auch verringert sein. Ein Schema, das einen hypothetischen neurochemischen Mechanismus für die beobachteten Effekte illustriert, ist in Abbildung 19 dargestellt. Dieses Schema ist nicht nur für die neurochemischen Effekte einer 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung auf den Kokain-induzierten 5-HT-Anstieg im Hippocampus und Nac anwendbar, sondern auch auf die durch 8-OH-DPAT abgeschwächte 5-HT-Antwort nach dem SSRI Fluoxetine (Rutter et al., 1995) oder dem Psychostimulans Amphetamin (Kuroki et al., 1996).

Die Ergebnisse aus Experiment III unterstützen nicht nur den in Experiment II vorgeschlagenen neurochemischen Mechanismus, sondern auch die Annahme, dass der 5-HT-Anstieg nach Kokain im Hippocampus und im Nac eine inhibitorische Rolle bei der Expression der akuten Hyperlokomotion nach Kokain spielt. Die bisherigen Experimente haben gezeigt, dass eine Inhibierung der akuten Hyperlokomotion nach Kokain mit einem potenzierten 5-HT-Anstieg im Hippocampus und im Nac einhergeht und eine Potenzierung der Hyperlokomotion mit einem abgeschwächten 5-HT-Anstieg verbunden ist. Es muss hierbei jedoch kritisch angemerkt werden, dass es sich bisher lediglich um korrelative Daten handelt, deren kausale Beziehung noch nicht eindeutig nachgewiesen ist. Sehr wahrscheinlich muss aber das konventionelle Bild einer lediglich dopaminerg medierten, akuten Verhaltensaktivierung nach Kokain erweitert werden, um die beobachteten Effekte sinnvoll interpretieren zu können. Alternativ könnte argumentiert werden, dass 5-HT lediglich die Aktivität dopaminerg Neurone in der VTA (Kelland et al., 1993) oder/und die DA-Konzentration in dopaminergen Terminalgebieten (Parsons & Justice, 1993) moduliert hat. Eine durch 8-OH-DPAT modulierte 5-HT-Antwort nach Kokain könnte demnach zu einer veränderten DA-Antwort führen, die wiederum die Expression von Hyperlokomotion nach Kokain kontrolliert. Verschiedene Befunde sprechen jedoch gegen diese Annahme.

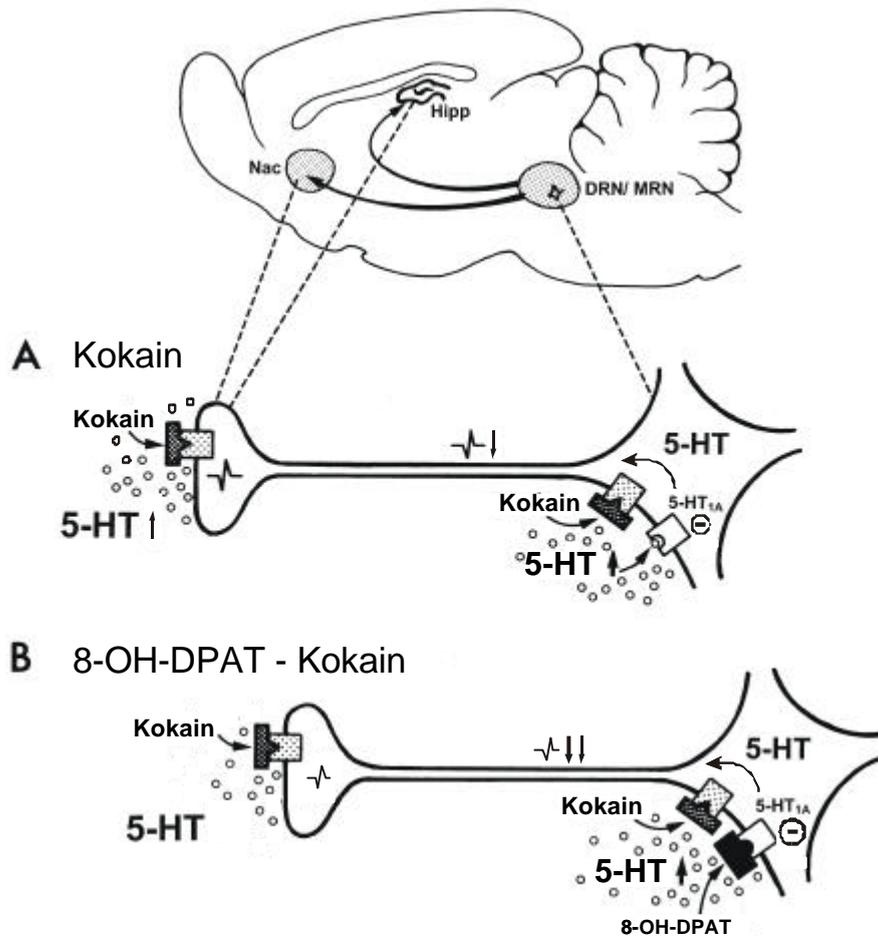


Abb. 19 Hypothetisches Schema für die Inhibition des Kokain-induzierten Anstiegs der extrazellulären Serotonin (5-HT)-Konzentration im Hippocampus (Hipp) und Nucleus accumbens (Nac) durch den 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten 8-OH-DPAT an den serotonergen Neuronen im Nucleus raphe dorsalis und medianus (DRN/MRN). **A:** Kokain induziert einen Anstieg der terminalen und somatodendritischen 5-HT-Konzentration durch Blockade der 5-HT-Wiederaufnahme am 5-HT-Transporter (hellgraue Kästchen). Ein erhöhter somatodendritischer 5-HT-Level führt zu einer stärkeren Aktivierung der somatodendritischen 5-HT_{1A}-Autorezeptoren (weiße Kästchen). Diese wirken inhibitorisch und reduzieren die Feuerrate der serotonergen Neurone. **B:** Bei vorheriger Applikation des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten 8-OH-DPAT kommt es noch, zusätzlich zu einem Kokain-induzierten Anstieg im 5-HT in der somatodendritischen Region, zu einer vermehrten 5-HT_{1A}-Autorezeptor Aktivierung, die wiederum zu einer vermehrten Hemmung der serotonergen Feuerrate führt. Die terminalen Effekte von Kokain sind wahrscheinlich nicht verändert, da terminale 5-HT-Autorezeptoren nicht vom 5-HT_{1A}-Typ sind. Nach 8-OH-DPAT-Kokain Behandlung addieren sich – im Vergleich zu Kokain allein – die inhibitorischen Effekte auf die Feuerrate serotonerger Neurone. Die Kokain-induzierte terminale Wiederaufnahmehemmung von 5-HT ist damit weniger effektiv. Daraus resultiert eine Abschwächung des Kokain-induzierten 5-HT-Anstiegs im Hippocampus und Nac.

Erstens wurde für 8-OH-DPAT gezeigt, dass es eher zu einer Reduktion als zu einem Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration im Nac und Striatum führt (Nomikos et al., 1996; Ichikawa & Meltzer, 2000) und dass 8-OH-DPAT einen Amphetamin-induzierten Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration im präfrontalen Kortex, im Striatum und im Nac inhibiert (Ichikawa et al., 1995; Kuroki et al., 1996). 8-OH-DPAT hatte zudem keinen Effekt auf einen Haloperidol-induzierten DA-Anstieg im Striatum und Nac (Lucas et al., 1997; Ichikawa & Meltzer, 2000). Zweitens wurde in diesem Experiment beobachtet, dass 8-OH-DPAT keinen Einfluss auf die Kokain-induzierte Verringerung der extrazellulären DOPAC-Konzentration hat. Eine veränderte DOPAC-Antwort würde jedoch bei einem ebenfalls veränderten DA-Anstieg nach Kokain erwartet werden (für einen vergleichbaren zeitlichen Verlauf der DOPAC-Konzentration bei vergleichbarer DA-Konzentration: siehe auch Experiment I). Drittens konnten Carey et al. (2001) zeigen, dass eine Vorbehandlung mit 8-OH-DPAT die Kokain-induzierte Hyperlokomotion potenziert und post mortem Gewebslevel 5-HIAA/5-HT reduziert, dabei jedoch keinen Einfluss auf den post mortem Gewebslevel DOPAC/DA hatte. Ausgehend von diesen Beobachtungen scheint eine rein dopaminerge Mediierung der Effekte einer 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulierung auf die akute Kokain-induzierte Hyperlokomotion eher unwahrscheinlich.

3.3.4.4 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus und spontanes Verhalten

In diesem Experiment wurde ein kurzzeitiger Anstieg der lokomotorischen Aktivität nach 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung beobachtet. Dieser Anstieg war in beiden Gruppen, die eine 8-OH-DPAT-Injektion erhielten, zu beobachten, was eine Beteiligung des 5-HT_{1A}-Rezeptors an der Generierung lokomotorischer Aktivität wahrscheinlich macht. Das Ausbleiben inhibitorischer Effekte nach der 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade in Experiment I und II könnte damit auf einen Bodeneffekt bei geringer spontaner Lokomotion zurückzuführen sein. Es ist aber auch möglich, dass eine tonische Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors nicht für die Generierung spontaner lokomotorischer Aktivität benötigt wird, eine zusätzliche Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors, z.B. durch Erhöhung der serotonergen Aktivität, aber faszilitierend auf die Lokomotion wirkt (Vanderwolf, 1989; Jacobs & Fornal, 1993). Eine beträchtliche Variation bei der Habituation an die Versuchsanordnung (Evenden & Ångeby-Möller,

1990) und bei der Offenfeldgröße ist möglicherweise auch im Falle von 8-OH-DPAT allein für die zum Teil konträren Befunde in der Literatur verantwortlich. So wird nach 8-OH-DPAT einerseits eine erhöhte Lokomotion (Tricklebank et al., 1984; Dourish et al., 1985; Lucki et al., 1989) andererseits aber auch eine verringerte Lokomotion (Carli et al., 1989; Hillegaart et al., 1989b; Mittman & Geyer, 1989) berichtet. Bei diesen Studien führte 8-OH-DPAT tendenziell in großen Offenfeldern zu einer Verringerung und in kleinen Offenfeldern zu einer Erhöhung der Lokomotion.

3.3.4.5 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus und das serotonerge System

In diesem Experiment wurde gefunden, dass die 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung zu einem tendenziellen Abfall der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Hippocampus und Nac führt. Ein Abfall der extrazellulären 5-HT-Konzentration nach 8-OH-DPAT wurde auch von anderen Autoren für den Hippocampus, das Striatum und andere Hirnstrukturen berichtet (Bonvento et al., 1992; Kreiss & Lucki, 1994; Casanovas et al., 1997) und bestätigt damit die Beobachtungen von Sprouse & Aghajanian (1988) und Riad et al. (2000), die eine verringerte terminale 5-HT-Konzentration nach Aktivierung somatodendritischer 5-HT_{1A}-Autorezeptoren fanden. Der ebenfalls in diesem Experiment beobachtete tendenzielle Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Nac nach 8-OH-DPAT, der eine verringerte 5-HT-Syntheseaktivität impliziert, bestätigt zudem die Annahme, dass der Abfall der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Nac über somatodendritische 5-HT_{1A}-Autorezeptoren und eine verringerte Feuerfrequenz serotonerger Neurone zustande kommt. Dem 5-HT_{1A}-Rezeptor kommt damit eine wichtige Rolle bei der Regulierung der extrazellulären 5-HT-Konzentration in terminalen Arealen serotonerger Projektionen bei einer generellen Aktivierung des serotonergen Systems zu.

3.4 Experiment IV

3.4.1 Einleitung

Die vorangegangenen Experimente hatten gezeigt, dass eine 5-HT_{1A}-Rezeptor medierte Modulation der akuten Hyperaktivität nach Kokain nicht, wie ursprünglich erwartet, mit einer veränderten DA-Antwort im Nac, sondern mit einer Potenzierung (Experiment II) oder Inhibierung (Experiment III) der 5-HT-Antwort im Hippocampus und Nac einhergeht. Daraus wurde abgeleitet, dass möglicherweise die Hippocampus-Nac Projektion und ihre serotonerge Innervierung die akuten Verhaltenseffekte von Kokain entscheidend mit beeinflusst. Für den Nac ist eine Beteiligung an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain bereits mehrfach nachgewiesen worden (Kelly & Iversen, 1976; Delfs et al., 1990; Ikemoto, 2002). Für den Hippocampus und die Hippocampus-Nac-Projektion ist bisher nur eine Beteiligung an der Generierung spontaner lokomotorischer Aktivität gezeigt worden (Mogenson & Nielsen, 1984; Brudzynski & Gibson, 1997; Bardgett & Henry, 1999; Bast et al., 2001a, 2001b; Zhang et al., 2002). Die Rolle des Hippocampus bei Kokain-induzierter Hyperlokomotion ist jedoch unklar. Im Gegensatz zum Nac, der 5-HT_{1A}-Rezeptoren nur in geringer Dichte aufweist, verfügt der Hippocampus über eine sehr hohe Dichte dieser Rezeptoren (Verge et al., 1986; Palacios et al., 1990; Pompeiano et al., 1992). Eine Modulation hippocampaler Aktivität nach Kokain-Gabe durch 5-HT_{1A}-Rezeptor Stimulation könnte damit über eine veränderte 5-HT-Antwort im Hippocampus oder/und durch die lokale Aktivierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren meditiert werden. Es wurde bereits gezeigt, dass sowohl 5-HT (Colino & Halliwell, 1987; Andrade & Nicoll, 1987; Segal, 1990b) als auch die selektive Aktivierung lokaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren (Sprouse & Aghajanian, 1988) die neuronale Aktivität im Hippocampus beeinflussen können. In Experiment IV sollte deshalb untersucht werden, welche Rolle hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptoren bei den akuten Verhaltenseffekten von Kokain und dem Kokain-induzierten Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus spielen. Parallel dazu sollte untersucht werden, welche Rolle den hippocampalen 5-HT_{1A}-Rezeptoren bei der Expression spontanen Verhaltens und bei der Regulierung der basalen extrazellulären 5-HT- und 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus zukommt. Dazu sollten die hippocampalen 5-HT_{1A}-Rezeptoren durch die lokale Applikation des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten 8-OH-DPAT selektiv stimuliert werden, wonach entweder eine Kokain- oder eine Saline-Injektion

folgte. Da die 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus keine präsynaptischen Autorezeptoren, sondern postsynaptische Rezeptoren sind (Riad et al., 2000), wurde zunächst kein Effekt der lokalen 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade weder auf die basale 5-HT-Konzentration noch auf den Kokain-induzierten Anstieg in der 5-HT-Konzentration im Hippocampus erwartet. Ebenfalls sollte in der 5-HIAA-Konzentration kein Effekt zu beobachten sein. Falls die 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain beteiligt sind, müsste nach lokaler 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung eine veränderte akute Verhaltensantwort nach Kokain-Gabe zu beobachten sein. Um eine mögliche Diffusion des lokal applizierten 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten zu kontrollieren, sollten zusätzlich die 5-HT- und 5-HIAA-Konzentrationen im Nac gemessen werden. Eine unveränderte 5-HT- und 5-HIAA-Antwort im Nac nach Kokain oder Saline wäre demnach ein Indiz für die lokale Wirkung des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten, wogegen ein abgeschwächter 5-HT-Anstieg nach Kokain im Nac, bzw. ein Abfall unter Ausgangslageniveau nach Saline, ein Indiz für eine Diffusion durch das gesamte Gehirn wäre, die ähnliche neurochemische Effekte induziert wie eine systemische Applikation (siehe Experiment III).

3.4.2 Spezielle Methoden

Die Versuchsdurchführung entsprach, bis auf die lokale Applikation des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten 8-OH-DPAT, derjenigen von Experiment II und III. Eine Woche vor Beginn der in-vivo Mikrodialyse Messungen wurden jedem Tier zwei Führungskanülen, jeweils eine in den Nac und eine in den ventralen Hippocampus, implantiert. Die Führungskanüle in den Nac wurde in einem Winkel von +/- 10° mit den Koordinaten: anterior: +1.6 mm, lateral: +/-2.6 mm, ventral: -5.8 mm (Referenz: Bregma, Paxinos & Watson, 1986) implantiert. Die Koordinaten für die Führungskanüle im Hippocampus waren: anterior: -5.6 mm, lateral: +/-4.8 mm, ventral: -3.2 mm (Referenz: Bregma, Paxinos & Watson, 1986). Auch in Experiment IV wurde spätestens 2 Stunden nach Einsetzen der Dialysesonden in jedem Tier eine stabile Ausgangslagekonzentration 5-HT und 5-HIAA gemessen. Während des Experiments erfolgte die Probennahme alle 30 Minuten (Probenintervall). Zunächst wurden wiederum 3 Ausgangslage Proben genommen. Dem folgte die lokale Applikation von entweder 0, 0.1, 1 oder 10 µM 8-OH-DPAT in den Hippocampus. Die

lokale Applikation des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten 8-OH-DPAT wurde mittels der reversen Dialyse durchgeführt. Dabei wurde die zu verabreichende Substanz während der in-vivo Mikrodialyse der Perfusionsflüssigkeit (Ringer) in einer definierten Konzentration (0, 0.1, 1 oder 10 μ M 8-OH-DPAT) zugegeben. Die Zugabe (bzw. das Wechseln von Vorratsspritzen) erfolgt dabei unter spezieller Berücksichtigung der Länge der PE-Schläuche der Dialysesonden, so dass das Flüssigkeitskompartiment mit der lokal zu applizierenden Substanz die aktive Membranfläche der Dialysonsode zu einem definierten Zeitpunkt erreicht. In diesem Experiment wurde der Zeitpunkt des Vorratsspritzen-Wechsels so gewählt, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonist genau nach den drei Ausgangslageintervallen (P1-P3) die Dialysemembran und damit den Hippocampus erreichte. Um eine ungewollte Diffusion des Rezeptor Agonisten zwischen den Flüssigkeitskompartimenten innerhalb der PE-Schläuche der Dialysesonden zu verhindern, wurden in die Perfusionsflüssigkeit zwei kleine Luftblasen ($v=1 \mu$ l) zur Trennung der Flüssigkeitskompartimente eingebracht. Die lokale Applikation von 8-OH-DPAT dauerte drei Probenintervalle (P4-P6). Danach erfolgte die Perfusion wieder mit Ringer-Lösung. Die Perfusion der Dialysonsode im Nac erfolgte während der gesamten Messzeit mit Ringer. Ein Probenintervall nach Beginn der lokalen Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus erhielt jedes Tier eine i.p. Injektion mit entweder 10 mg/kg Kokain oder Saline. Dabei wurde die gleiche Konzentration Kokain verwendet wie in den Experiment III. Der Dosisbereich 8-OH-DPAT wurde in Vortests zu Experiment IV bestimmt. 8-OH-DPAT wurde für die lokale Applikation in Ringer-Lösung (Perfusionsflüssigkeit) und Kokain für die i.p. Applikation in Saline gelöst. Sowohl die Kokain- als auch die Saline-Injektionen wurden in einem Volumen von 1 ml/kg i.p. verabreicht. Nach der i.p. Injektion wurde noch 8 Intervalle lang, d.h. für 240 Minuten, gemessen. Alle Mikrodialyseproben wurden mittels HPLC-EC auf ihren Gehalt an 5-HT und 5-HIAA untersucht.

3.4.3 Ergebnisse

3.4.3.1 Histologie

Die Lokalisation der Mikrodialysesonden innerhalb des Hippocampus und des Nac ist in Abbildung 20 dargestellt. Die Dialysesonden aller untersuchten Tiere waren im

Hippocampus und Nac lokalisiert. Bei einigen Tieren kam es zu einem unilateralen Verlust der Dialysesonden (Verstopfung der Silica-Kapillare).

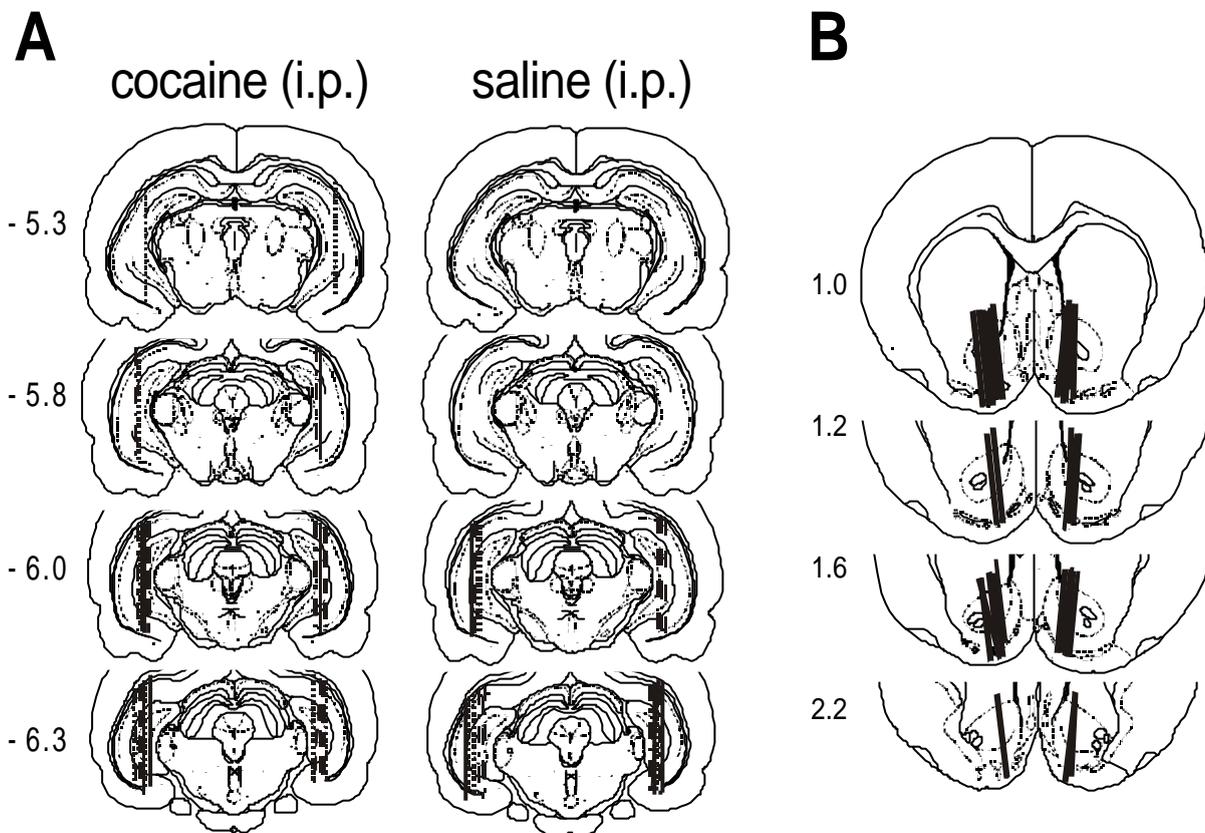


Abb. 20 Lokalisation der Mikrodialysesonden (aktive Membranfläche) in Koronalschnitten des Rattenhirns nach Paxinos & Watson (1986). Die Zahlen zeigen den Abstand von Bregma an. A: Lokalisation im Hippocampus. Die verschiedenen Linien zeigen an, welche Konzentration von 8-OH-DPAT über die reverse Dialyse mittels der jeweiligen Dialysesonde in den Hippocampus verabreicht wurde (durchgezogene Linie: 0 μM , Strich-Punkt-Linie: 0.1 μM ; gestrichelte Linie: 1 μM ; gepunktete Linie: 10 μM). B: Lokalisation im Nucleus accumbens.

3.4.3.2 Verhalten

Die Injektion von Ringer/Kokain ($n=6$) induzierte einen bedeutsamen Anstieg der Lokomotion ($F_{11,55}=6.51$, $p<0.0001$; Abb. 21), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.001$). Der Anstieg der Lokomotion nach einer Kokain-Injektion war in allen drei Gruppen mit lokaler 8-OH-DPAT Applikation in den Hippocampus deutlich geringer als in der Ringer/Kokain Gruppe. Die Injektion von Kokain führte dennoch zu einem

bedeutsamen Anstieg in der 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($n=5$; $F_{11,44}=3.81$, $p<0.0001$), der unmittelbar nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.01$). Ebenfalls in P5 erreichte der bedeutsame Anstieg der Lokomotion in der 10 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($n=8$; $F_{11,77}=3.53$, $p<0.001$; Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.001$) sein Maximum. Dagegen wurde in der 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($n=6$) kein bedeutsamer Anstieg der Lokomotion nach der Kokain-Injektion beobachtet ($p>0.05$).

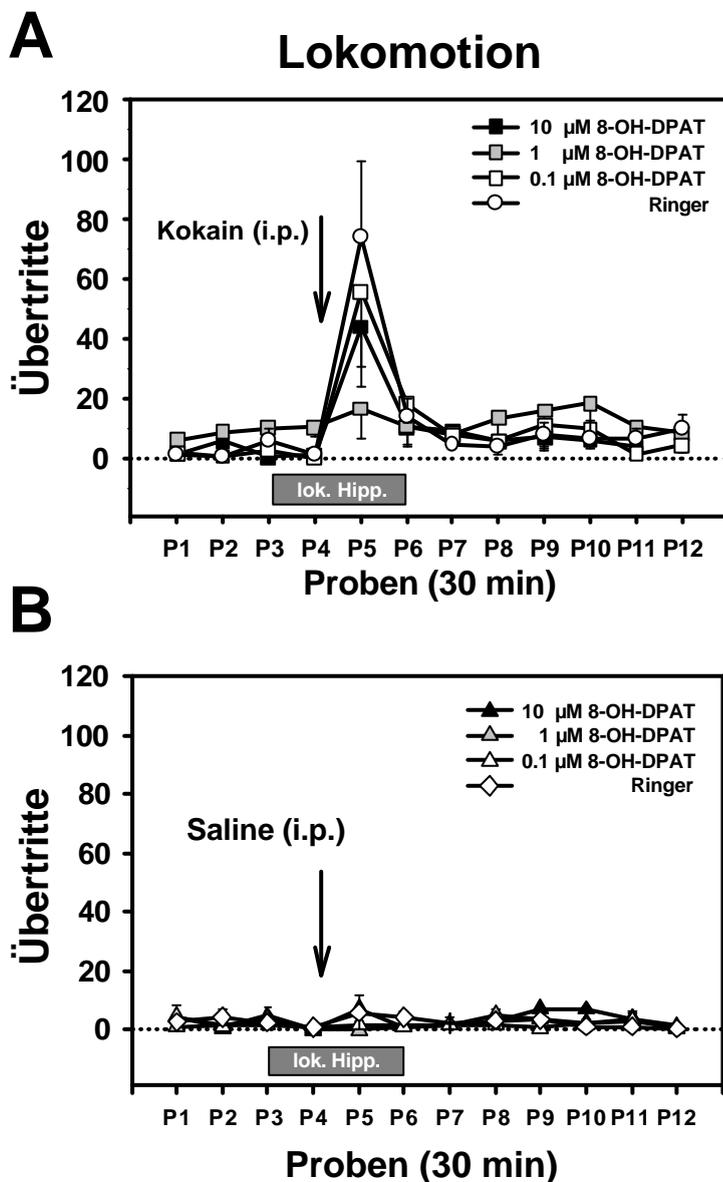


Abb. 21 Lokomotion nach i.p. Injektion von entweder Kokain (10 mg/kg; A) oder 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline; B) bei lokaler Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus mittels reverser Dialyse. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten. Den drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgte die lokale Applikation in den Hippocampus (grauer Balken). Ein Probenintervall später wurde die i.p. Injektion (Pfeil) verabreicht.

Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für den Faktor Probenintervalle ($F_{11,396}=9.84$, $p<0.0001$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,396}=2.22$, $p<0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied in der Lokomotion zwischen der Ringer/Kokain und der 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5: $p<0.0001$). Kein bedeutsamer Unterschied fand sich dagegen zwischen Ringer/Kokain und 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($p>0.05$) und zwischen Ringer/Kokain und 10 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe (P5: $p<0.056$).

Die Behandlung mit Ringer/Saline ($n=5$) hatte keinen bedeutsamen Effekt auf die Lokomotion ($p>0.05$). Eine Saline-Injektion hatte weder in der 0.1 μM 8-OH-DPAT/Saline Gruppe ($n=4$) noch in der 1 μM 8-OH-DPAT/Saline Gruppe ($n=5$) oder in der 10 μM 8-OH-DPAT/Saline Gruppe ($n=5$) einen Effekt auf die Lokomotion ($p>0.05$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten keinen bedeutsamen Unterschied in der Lokomotion zwischen allen Saline-injizierten Gruppen ($p>0.05$). Die Feinanalyse der Lokomotion (Abb. 22) zeigt deutlich, dass der Anstieg der Lokomotion nach der Kokain-Injektion in der Ringer/Kokain Gruppe größer, jedoch nicht länger anhaltend war als in allen drei Gruppen mit lokaler 8-OH-DPAT-Applikation in den Hippocampus und Kokain (i.p.). Die lokomotorische Aktivität war zudem nach der i.p. Injektion in allen vier mit Kokain behandelten Gruppen größer als in den vier mit Saline behandelten Gruppen. Nach Beginn der lokalen Applikation von 1 μM 8-OH-DPAT in den Hippocampus zeigte die 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe eine leicht erhöhte Lokomotion in Probenintervall P4. Dieser Effekt wurde in der 1 μM 8-OH-DPAT/Saline Gruppe jedoch nicht beobachtet.

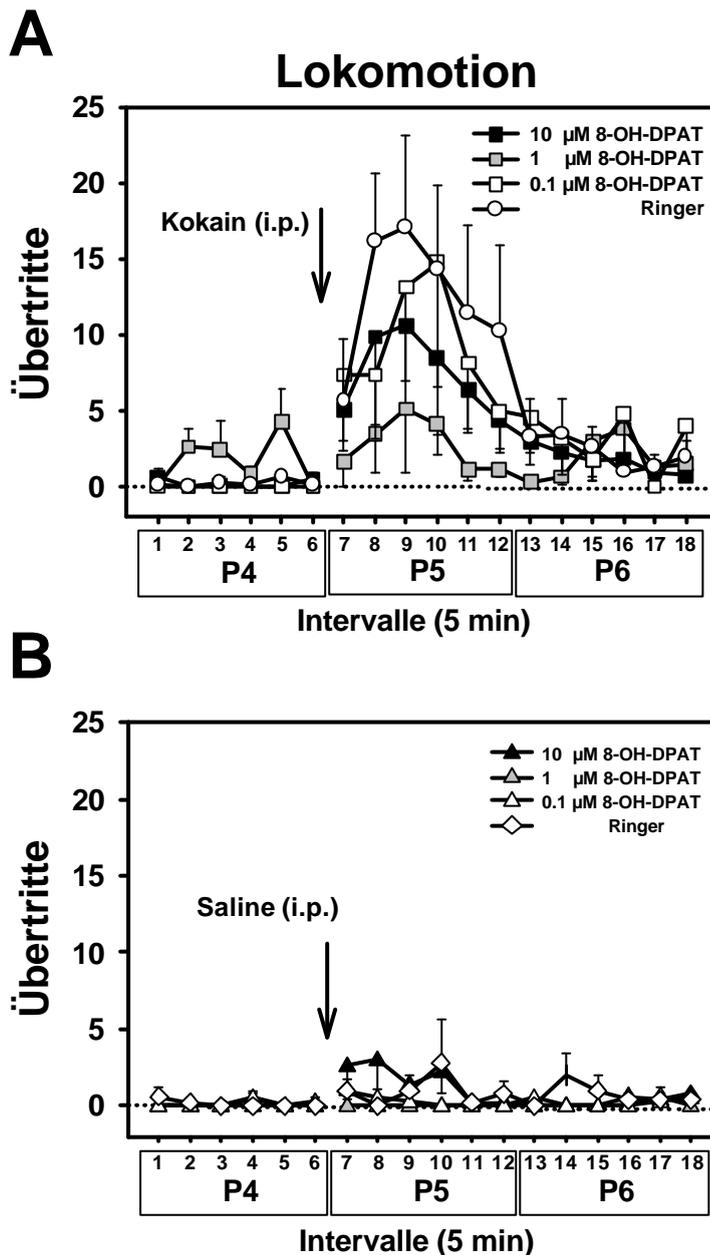


Abb. 22 Feinanalyse der Lokomotion nach i.p. Injektion von entweder Kokain (10 mg/kg; A) oder 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline; B) bei lokaler Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus mittels reverser Dialyse. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler für jede Behandlungsgruppe in Intervallen von 5 Minuten innerhalb der 3 Probenintervalle P4-P6. Ein Pfeil zeigt den Zeitpunkt der i.p. Injektion an.

Die Injektion von Ringer/Kokain induzierte ebenfalls einen bedeutsamen Anstieg im Aufrichtverhalten ($F_{11,55}=6.15$, $p<0.0001$; Abb. 23), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.001$). Der Anstieg im Aufrichtverhalten nach einer Kokain-Injektion war in allen drei Gruppen mit lokaler 8-OH-DPAT-Applikation in den Hippocampus deutlich geringer als in der Ringer/Kokain Gruppe. Die Injektion von Kokain führte dennoch zu einem bedeutsamen Anstieg in der 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($F_{11,55}=3.37$, $p<0.001$), der unmittelbar nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte

(Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.001$). Ebenfalls in P5 erreichte der bedeutsame Anstieg im Aufrichtverhalten in der 10 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($F_{11,77} = 3.41$, $p < 0.001$; Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.001$) sein Maximum. Dagegen wurde in der 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe kein bedeutsamer Anstieg im Aufrichtverhalten nach der Kokain-Injektion beobachtet ($p > 0.05$).

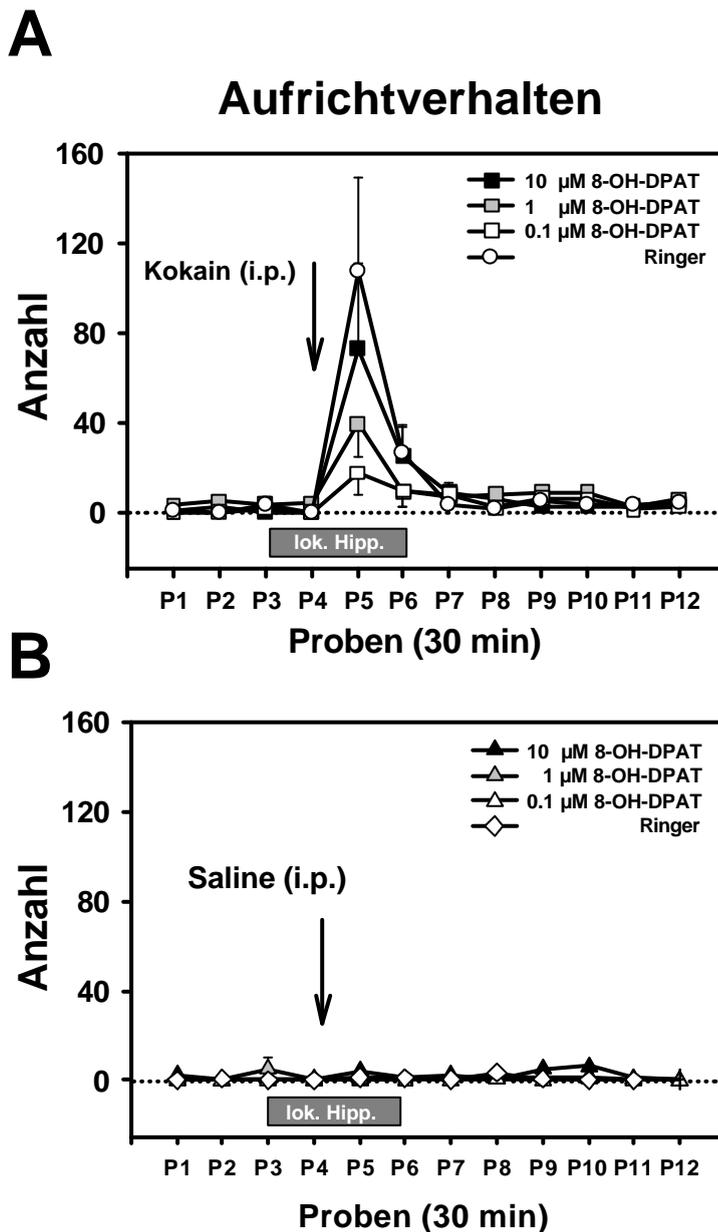


Abb. 23 Aufrichtverhalten nach i.p. Injektion von entweder Kokain (10 mg/kg; A) oder 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline; B) bei lokaler Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus mittels reverser Dialyse. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten. Den drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgte die lokale Applikation in den Hippocampus (grauer Balken). Ein Probenintervall später wurde die i.p. Injektion (Pfeil) verabreicht.

Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für den Faktor Probenintervalle ($F_{11,396}=8.15$, $p<0.0001$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{33,396}=2.21$, $p<0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied im Aufrichtverhalten zwischen der Ringer/Kokain und der 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe und zwischen der Ringer/Kokain und der 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (jeweils P5: $p<0.0001$). Kein bedeutsamer Unterschied fand sich dagegen zwischen Ringer/Kokain und 10 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($p>0.05$). Im Unterschied zur Lokomotion, bei der eine Dosis von 1 μM 8-OH-DPAT die effektivste Hemmung einer Kokain-induzierten Aktivierung verursacht hat, war beim Aufrichtverhalten eine Dosis von 0.1 μM am wirkungsvollsten.

Die Behandlung mit Ringer/Saline hatte keinen bedeutsamen Effekt auf das Aufrichtverhalten ($p>0.05$). Die Behandlung hatte weder in der 0.1 μM 8-OH-DPAT/Saline Gruppe noch in der 1 μM 8-OH-DPAT/Saline Gruppe oder in der 10 μM 8-OH-DPAT/Saline Gruppe einen Effekt auf das Aufrichtverhalten ($p>0.05$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten keinen bedeutsamen Unterschied im Aufrichtverhalten zwischen allen Saline-injizierten Gruppen ($p>0.05$). Die Feinanalyse des Aufrichtverhaltens (Abb. 24) zeigt, dass der Anstieg im Aufrichtverhalten nach der Kokain-Injektion in der Ringer/Kokain Gruppe deutlich größer und zum Teil auch länger anhaltend war als in den drei Gruppen mit lokaler 8-OH-DPAT Applikation in den Hippocampus und Kokain (i.p.). Das Aufrichtverhalten war zudem nach der i.p. Injektion in allen vier mit Kokain behandelten Gruppen größer als in den vier mit Saline behandelten Gruppen.

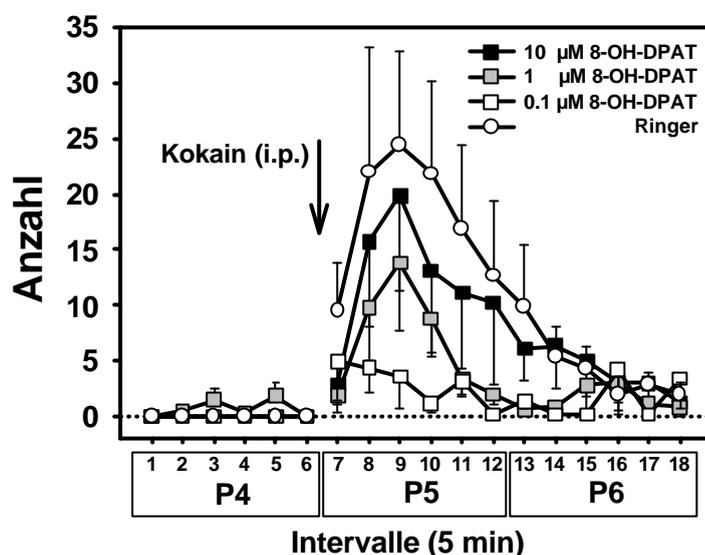
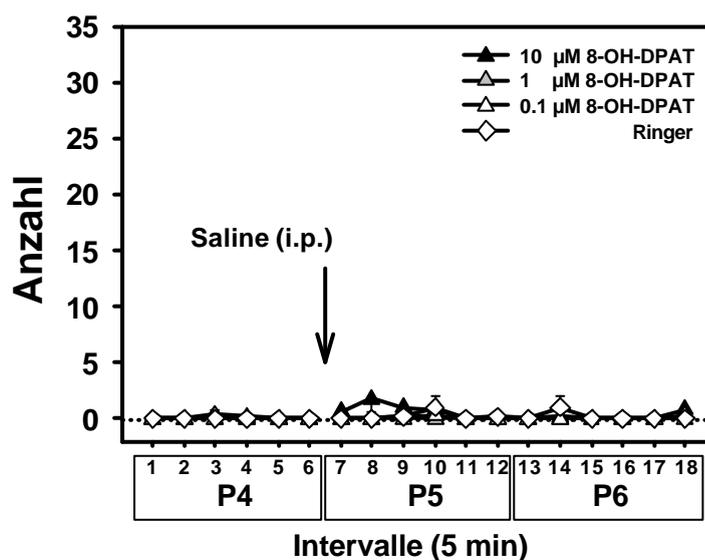
A**Aufrichtverhalten****B**

Abb. 24 Feinanalyse des Aufrichtverhaltens nach i.p. Injektion von entweder Kokain (10 mg/kg; A) oder 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline; B) bei lokaler Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus mittels reverser Dialyse. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler für jede Behandlungsgruppe in Intervallen von 5 Minuten innerhalb der 3 Probenintervalle P4 -P6. Ein Pfeil zeigt den Zeitpunkt der i.p. Injektionen an.

3.4.3.3 Neurochemie

Der Ausgangslagewert der 5-HT-Konzentration betrug im Mittel 2.8 ± 0.2 pg/45 µl im Hippocampus und 2.3 ± 0.2 pg/45 µl im Nac. Der Ausgangslagewert der 5-HIAA-Konzentration betrug im Mittel 722.8 ± 71.8 pg/45 µl im Hippocampus und 1178.5 ± 99.8 pg/45 µl im Nac. Weder für die 5-HT- noch für die 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus und im Nac wurde ein bedeutsamer Unterschied zwischen den

Behandlungsgruppen in der Ausgangslage beobachtet (Hippocampus und Nac: $p > 0.05$).

Die Behandlung mit Ringer/Kokain induzierte einen bedeutsamen Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus ($F_{11,55}=10.37$, $p < 0.0001$; Abb. 25), der im 30 Minuten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.001$, P6: $p < 0.01$). Der Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus nach einer Kokain-Injektion war in allen drei Gruppen mit lokaler 8-OH-DPAT-Applikation in den Hippocampus geringer als in der Ringer/Kokain Gruppe. Die Injektion von Kokain führte dennoch zu einem bedeutsamen Anstieg in der 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($F_{11,44}=10.37$, $p < 0.0001$), der unmittelbar nach der Kokain-Injektion (P5) sein Maximum erreichte (Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.001$, P6: $p < 0.01$). Ebenfalls bedeutsam war der Anstieg der 5-HT-Konzentration nach Kokain-Gabe in der 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($F_{11,55}=2.90$, $p < 0.01$; Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.01$) und in der 10 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($F_{11,66}=8.76$, $p < 0.0001$; Tukey's Test, P3 vs. P5: $p < 0.001$, P6: $p < 0.01$), die beide ihr Maximum in Intervall P5 erreichten. Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,374}=23.44$, $p < 0.0001$), Behandlung ($F_{7,34}=3.27$, $p < 0.01$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{77,374}=3.11$, $p < 0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied in der 5-HT-Konzentration im Hippocampus zwischen der Ringer/Kokain und der 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe in den beiden 30 Minuten Intervallen nach der Kokain-Injektion (P5: $p < 0.0001$, P6: $p < 0.05$). Kein bedeutsamer Unterschied fand sich dagegen zwischen Ringer/Kokain und 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe und zwischen Ringer/Kokain und 10 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($p > 0.05$).

Die Behandlung mit Ringer/Saline hatte keinen bedeutsamen Effekt auf die 5-HT-Konzentration im Hippocampus ($p > 0.05$). Eine Saline-Injektion führte in der 0.1 μM 8-OH-DPAT/Saline Gruppe ($F_{11,33}=2.18$, $p < 0.05$) und in der 10 μM 8-OH-DPAT/Saline Gruppe ($F_{11,44}=5.29$, $p < 0.0001$) zu einem leichten Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus, der sich jedoch in beiden Behandlungsgruppen nicht bedeutsam von der Ausgangslage unterschied (Tukey's Test, $p > 0.05$).

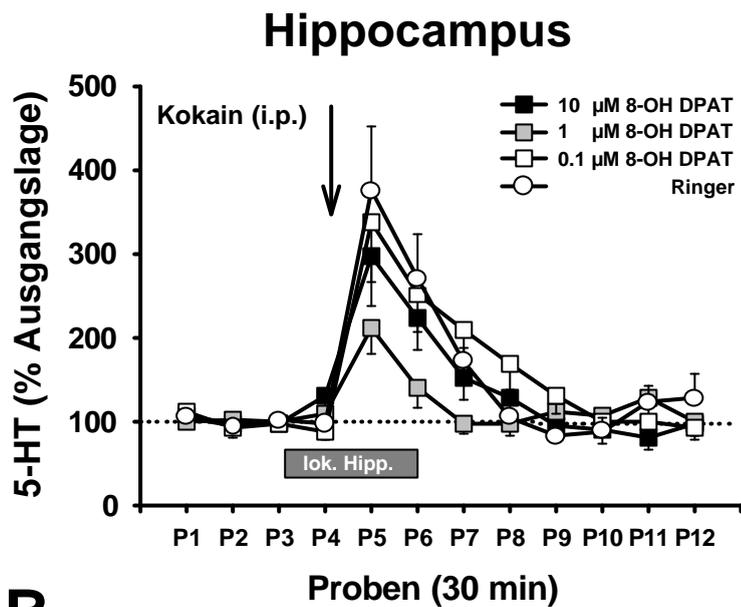
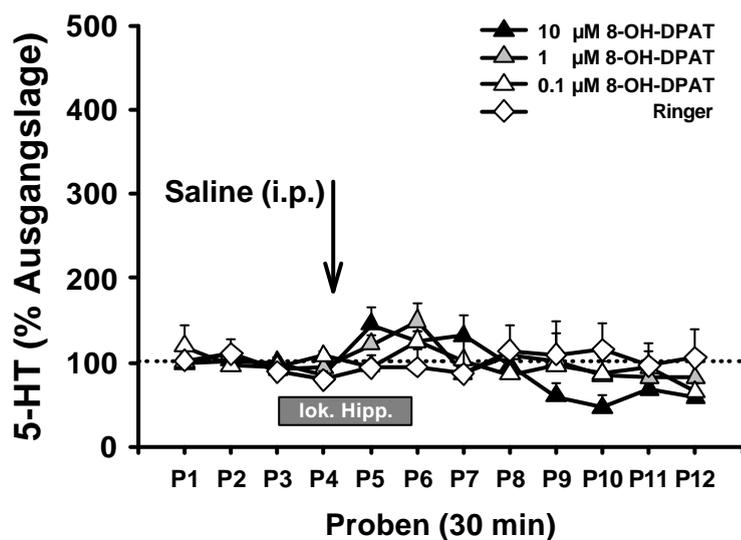
A**B**

Abb. 25 Serotonin (5-HT)-Konzentrationen im Hippocampus nach i.p. Injektion von entweder Kokain (10 mg/kg; A) oder 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline; B) bei lokaler Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus mittels reverser Dialyse. Die Konzentrationen sind als Prozentwerte der 3 Ausgangslagewerte (Mittelwerte \pm Standardfehler) für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten dargestellt. Den drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgte die lokale Applikation in den Hippocampus (grauer Balken). Ein Probenintervall später wurde die i.p. Injektion (Pfeil) verabreicht.

Die Behandlung mit 1 μ M 8-OH-DPAT/Saline hatte keinen Effekt auf die 5-HT-Konzentration im Hippocampus. Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten keinen bedeutsamen Unterschied in der 5-HT-Konzentration zwischen allen Salineinjizierten Gruppen ($p > 0.05$).

In allen vier Gruppen mit Kokain-Gabe fiel die 5-HIAA-Konzentration nach der Injektion leicht ab (Abb. 26). Dieser leichte Abfall war aber nicht bedeutsam für die Ringer/Kokain und die 10 μ M 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($p > 0.05$). Der Abfall der 5-HIAA-Konzentration in der 0.1 μ M 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($F_{11,44} = 3.83$,

$p < 0.001$) unterschied sich nicht bedeutsam vom Niveau der Ausgangslage (Tukey's Test, $p > 0.05$). Der Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus war in der 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($F_{11,55} = 2.84$, $p < 0.01$) stärker ausgeprägt und länger anhaltend als in der Ringer/Kokain Gruppe, unterschied sich aber ebenfalls nicht bedeutsam von der Ausgangslage (Tukey's Test, $p > 0.05$).

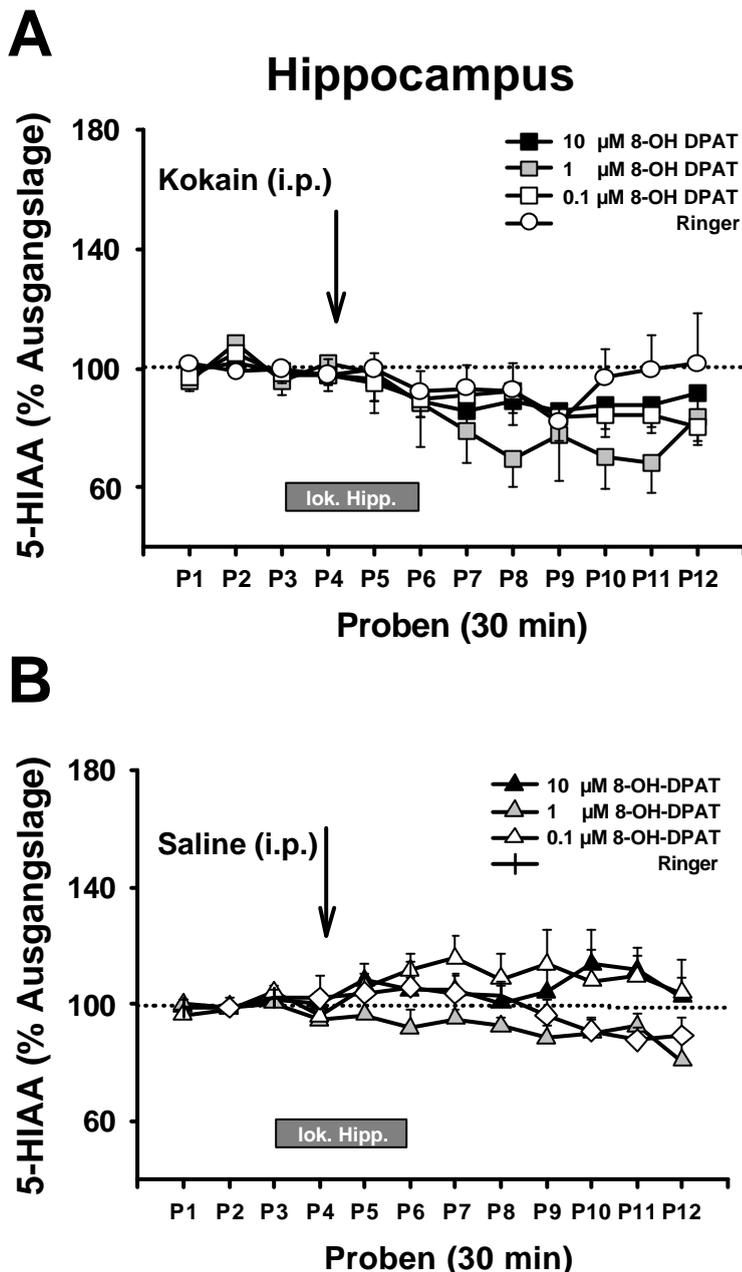


Abb. 26 5-HIAA-Konzentrationen im Hippocampus nach i.p. Injektion von entweder Kokain (10 mg/kg; A) oder 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline; B) bei lokaler Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus mittels reverser Dialyse. Die Konzentrationen sind als Prozentwerte der 3 Ausgangslagewerte (Mittelwerte \pm Standardfehler) für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten dargestellt. Den drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgte die lokale Applikation in den Hippocampus (grauer Balken). Ein Probenintervall später wurde die i.p. Injektion (Pfeil) verabreicht.

Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für den Faktor Probenintervalle ($F_{11,374} = 3.72$, $p < 0.0001$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion

($F_{77,374}=1.76$, $p<0.001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten einen bedeutsamen Unterschied in der 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus zwischen der Ringer/Kokain und der 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe (P_{11} : $p<0.05$). Kein bedeutsamer Unterschied fand sich dagegen zwischen Ringer/Kokain und 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe und zwischen Ringer/Kokain und 10 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($p>0.05$). In keiner der vier Saline-Gruppen hatte die Behandlung einen bedeutsamen Effekt auf die 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus ($p>0.05$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten ebenfalls keinen deutlichen Unterschied in der 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus zwischen den einzelnen mit Saline behandelten Gruppen ($p>0.05$).

Die Kokain-Gabe induzierte einen Anstieg der 5-HT-Konzentration im Nac in allen vier Kokain-Gruppen, der sein Maximum jeweils im ersten Intervall nach der Kokain-Injektion (P5) erreichte (Abb. 27). Der Anstieg war bedeutsam für die Ringer/Kokain ($F_{11,55}=10.88$, $p<0.0001$; Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.0001$, P6: $p<0.001$), die 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain ($F_{11,44}=10.06$, $p<0.0001$; Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.0001$), die 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain ($F_{11,55}=7.84$, $p<0.0001$; Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.0001$, P6: $p<0.01$) und die 10 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($F_{11,55}=3.10$, $p<0.01$; Tukey's Test, P3 vs. P5: $p<0.01$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für die Faktoren Probenintervalle ($F_{11,330}=10.70$, $p<0.0001$), Behandlung ($F_{7,30}=3.89$, $p<0.01$) und die Probenintervalle x Behandlung Interaktion ($F_{77,330}=2.09$, $p<0.0001$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten keinen bedeutsamen Unterschied in der 5-HT-Konzentration im Nac zwischen allen drei Gruppen mit 8-OH-DPAT-Applikation in den Hippocampus und Kokain (i.p.) verglichen mit der Ringer/Kokain Gruppe ($p>0.05$). In allen vier Gruppen mit Kokain-Injektion unterschied sich jedoch die 5-HT-Konzentration im Nac deutlich von der der Ringer/Saline Gruppe (alle P5: $p<0.01$). Weder die Ringer/Saline noch die lokale Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus, gefolgt von einer Saline-Injektion, hatten einen Effekt auf die 5-HT-Konzentration im Nac ($p>0.05$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten ebenfalls keinen bedeutsamen Unterschied in der 5-HT-Konzentration im Nac zwischen allen drei Gruppen mit 8-OH-DPAT Applikation in den Hippocampus und Saline (i.p.) verglichen mit der Ringer/Saline Gruppe ($p>0.05$).

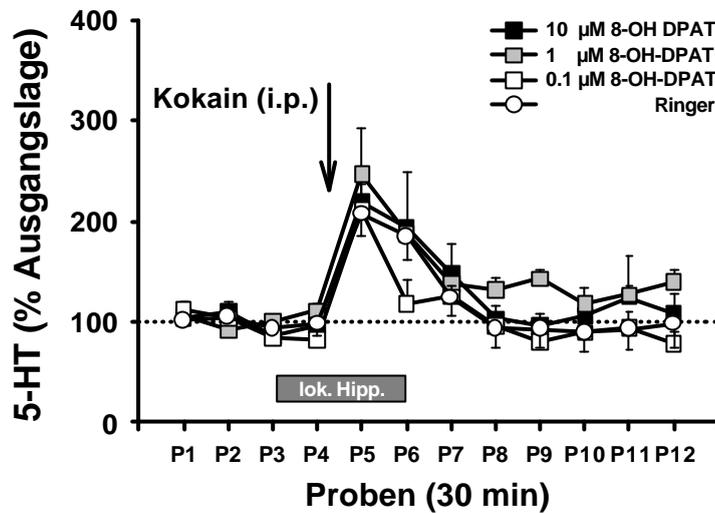
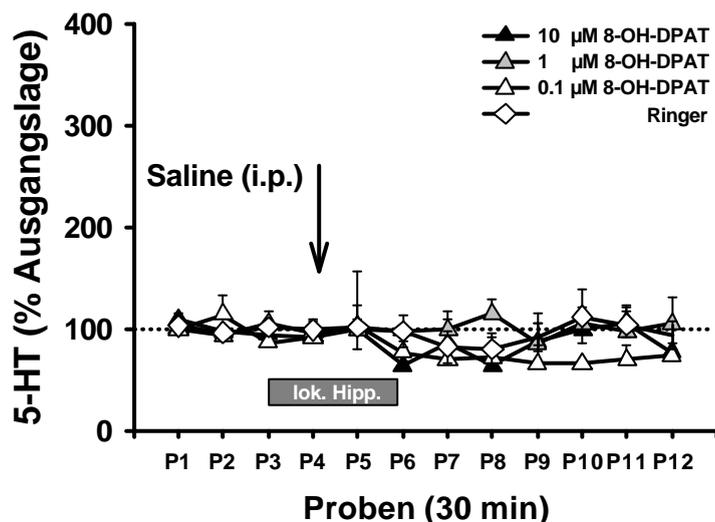
A**Ncl. accumbens****B**

Abb. 27 Serotonin-Konzentrationen im Nucleus accumbens nach i.p. Injektion von entweder Kokain (10 mg/kg; A) oder 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline; B) bei lokaler Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus mittels reverser Dialyse. Die Konzentrationen sind als Prozentwerte der 3 Ausgangslagewerte (Mittelwerte \pm Standardfehler) für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten dargestellt. Den drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgte die lokale Applikation in den Hippocampus (grauer Balken). Ein Probenintervall später wurde die i.p. Injektion (Pfeil) verabreicht.

Die Injektion von Kokain induzierte einen lang anhaltenden Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Nac in allen vier Kokain-Gruppen (Abb. 28). Der Abfall war bedeutsam für die Ringer/Kokain ($F_{11,55}=2.41$, $p<0.05$), die 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain ($F_{11,44}=4.76$, $p<0.001$) und die 1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($F_{11,55}=3.03$, $p<0.01$), jedoch nicht für die 10 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe ($p>0.05$). Ein bedeutsamer Unterschied zur Ausgangslage wurde allerdings nur für die 0.1 μM 8-OH-DPAT/Kokain Gruppe gefunden (Tukey's Tests, P3 vs. P6: $p<0.05$). Eine zweifaktorielle ANOVA zeigte deutliche Effekte für den Faktor Probenintervalle

($F_{11,330}=1.96$, $p<0.05$) und die Probenintervalle \times Behandlung Interaktion ($F_{77,370}=1.42$, $p<0.05$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten keinen bedeutsamen Unterschied in der 5-HIAA-Konzentration im Nac zwischen allen drei Gruppen mit 8-OH-DPAT Applikation in den Hippocampus und Kokain verglichen mit der Ringer/Kokain Gruppe ($p>0.05$). Weder die Ringer/Saline noch die lokale Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus, gefolgt von einer Saline-Injektion, hatten einen Effekt auf die 5-HIAA-Konzentration im Nac ($p>0.05$). Post hoc Tukey's Tests für die Interaktion zeigten ebenfalls keinen bedeutsamen Unterschied in der 5-HIAA-Konzentration im Nac zwischen allen drei Gruppen mit 8-OH-DPAT Applikation in den Hippocampus und Saline verglichen mit der Ringer/Saline Gruppe ($p>0.05$).

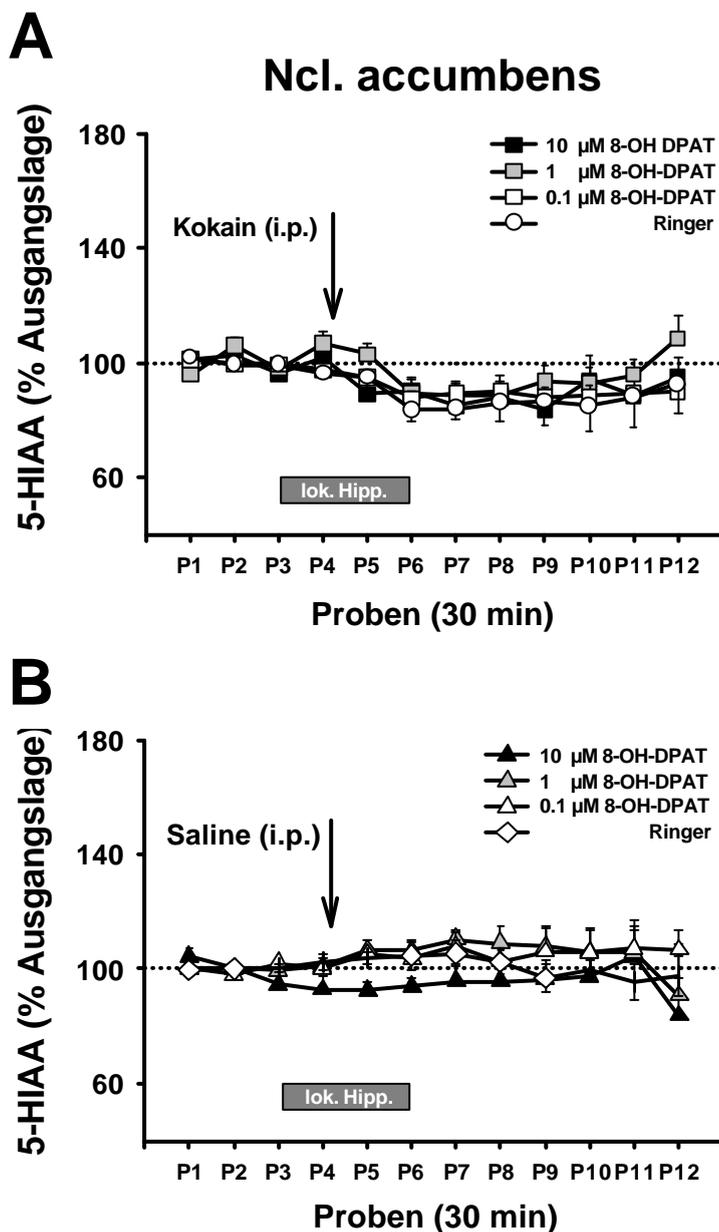


Abb. 28 5-HIAA-Konzentrationen im Nucleus accumbens nach i.p. Injektion von entweder Kokain (10 mg/kg; A) oder 0.9%iger Kochsalzlösung (Saline; B) bei lokaler Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus mittels reverser Dialyse. Die Konzentrationen sind als Prozentwerte der 3 Ausgangslagewerte (Mittelwerte \pm Standardfehler) für jede Behandlungsgruppe für einen Zeitraum von 12 Probenintervallen (P) mit einer Dauer von jeweils 30 Minuten dargestellt. Den drei Ausgangslage Probenintervallen (P1-P3) folgte die lokale Applikation in den Hippocampus (grauer Balken). Ein Probenintervall später wurde die i.p. Injektion (Pfeil) verabreicht.

3.4.4 Diskussion

3.4.4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Ergebnisse aus Experiment IV zeigen, dass die selektive Aktivierung lokaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus sowohl die Kokain-induzierte Hyperaktivität als auch den Anstieg im Aufrichtverhalten in Abhängigkeit von der verwendeten Dosierung inhibieren kann. Die Stimulierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren hatte dabei keinen Effekt auf die Verhaltensaktivität nach einer Saline-Injektion. Parallel dazu führte die lokale Applikation des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten in den Hippocampus zu einer Abschwächung des Kokain-induzierten Anstieges der 5-HT-Konzentration im Hippocampus. Eine Kokain-Injektion führte im Hippocampus zu einem leichten Absinken der extrazellulären 5-HIAA-Konzentration, die durch hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung noch verstärkt wurde. Die Aktivierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren hatte in diesem Experiment keinen bedeutsamen Effekt auf die 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus nach einer Saline-Injektion. Die Kokain-Gabe führte ebenfalls zu einem Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Nac, der durch die lokale Applikation des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten in den Hippocampus jedoch nicht beeinflusst wurde. Die Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors führte ebenfalls nicht zu einem Unterschied im Kokain-induzierten Abfall der 5-HIAA-Konzentration zwischen den Behandlungsgruppen im Nac. Die hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung hatte zudem keinen Effekt auf die 5-HIAA-Konzentration im Nac nach einer Saline-Injektion.

3.4.4.2 Hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus und die Verhaltenseffekte von Kokain

In Experiment IV konnte gezeigt werden, dass die selektive Aktivierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren zu einer Abschwächung der akuten Hyperaktivität nach Kokain-Gabe führt. Dieses Ergebnis spricht für eine bedeutende Rolle der 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus und damit auch für den Hippocampus und seinen serotonergen Eingang bei der Mediation der akuten Verhaltenseffekte von Kokain. Die effektivste Dosierung für die Abschwächung der akuten Hyperlokomotion nach Kokain war 1 µM 8-OH-DPAT, während die effektivste Dosierung für die Inhibition des Kokain-induzierten Aufrichtverhaltens 0.1 µM 8-OH-DPAT war. Diese

Beobachtung impliziert nicht nur eine Beteiligung der hippocampalen 5-HT_{1A}-Rezeptoren an beiden Verhaltenseffekten von Kokain, sondern auch eine höhere Sensitivität des Aufrichtverhaltens gegenüber der Lokomotion bei einer Modulation des serotonergen Systems im Hippocampus. Sowohl die Effekte auf die Kokain-induzierte Hyperlokomotion und den Anstieg im Aufrichtverhalten als auch die neurochemischen Effekte waren abhängig von der verwendeten Dosis 8-OH-DPAT. Dabei wurde in allen Parametern eine umgekehrt U-förmige Dosis-Wirkungs-Beziehung beobachtet, die für die höchste verwendete 8-OH-DPAT Dosierung (10 µM) möglicherweise durch die moderate Affinität von 8-OH-DPAT zu 5-HT₇-Rezeptoren im Hippocampus (Mengod et al., 1999; Bonaventure et al., 2002) zu erklären ist. Eine zusätzlich leichte Aktivierung von 5-HT₇-Rezeptoren im Hippocampus könnte demnach den Effekten von 8-OH-DPAT am 5-HT_{1A}-Rezeptor (Hamon, 1999) entgegenwirken, und so die Inhibierung der neurochemischen- und Verhaltenseffekte von Kokain abschwächen (Branchek & Zgombick, 1999).

Ausgehend von den Ergebnissen aus Experiment III war eine Modulierung der akuten Verhaltenseffekte von Kokain durch Aktivierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren erwartet worden. Die Beobachtung einer abgeschwächten Hyperlokomotion war dennoch überraschend, da sie scheinbar im Gegensatz zu den Ergebnissen aus Experiment III und den Beobachtungen von De la Garza & Cunningham (2000) und Carey et al. (2002) steht, bei denen eine systemische 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung mit 8-OH-DPAT, d.h. die Aktivierung aller 5-HT_{1A}-Rezeptoren im ZNS, zu einer Potenzierung der Hyperlokomotion nach Kokain geführt hat. Die 5-HT_{1A}-Rezeptoren im ZNS können prinzipiell in zwei Populationen unterteilt werden: in somatodendritische Autorezeptoren und in postsynaptische Rezeptoren (Gozlan et al., 1983; Riad et al., 2000), die beide über unterschiedliche Koppelungsmechanismen verfügen (Blier et al., 1993a, 1993b). Bei einer höheren Sensitivität der somatodendritischen Autorezeptoren gegenüber pharmakologischer Stimulation (Sprouse & Aghajanian, 1988) führt systemisch appliziertes 8-OH-DPAT wahrscheinlich zu stärkeren physiologischen Effekten am somatodendritischen Autorezeptor als an postsynaptischen Rezeptoren im Hippocampus (Blier & De Montigny, 1987). Nach intra-hippocampaler Applikation von 8-OH-DPAT sollten dagegen nur postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus aktiviert werden. Eine Diffusion des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten vom Hippocampus ins restliche ZNS scheint als Erklärung für die beobachteten Effekte unwahrscheinlich, da 1.) die intra-

hippocampale Applikation von 8-OH-DPAT keinen inhibitorischen Effekt auf die 5-HT-Konzentration im Hippocampus oder Nac hatte, was mehrfach nach systemischer 8-OH-DPAT Applikation beobachtet wurde (Kreiss & Lucki, 1994; Casanovas et al., 1997; Experiment III) und da 2.) die lokale Applikation von 8-OH-DPAT in den Hippocampus nicht zu einer veränderten 5-HT- oder 5-HIAA-Antwort im Nac nach Kokain-Gabe führte. Nach systemischer 8-OH-DPAT Applikation wurde dagegen eine Inhibierung des Kokain-induzierten Anstiegs der 5-HT-Konzentration im Nac beobachtet (Experiment II). Die Diffusion von 8-OH-DPAT, die Jolas et al. (1995) nach lokaler Injektion in den dorsalen Hippocampus beobachtet hatten, kam im Vergleich zu Experiment IV durch eine deutlich höhere Dosierung und eine weniger schonende Applikationsmethode zustande. Bonvento et al. (1992) konnten zudem in einer Autoradiographie-Studie zeigen, dass die Effekte lokal applizierten 8-OH-DPAT's auf eine bestimmte Struktur beschränkt sein können.

Aufgrund der Beobachtungen in Experiment III und IV, dass nämlich systemische und hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung einander entgegengesetzte Effekte auf die akute Kokain-induzierte Hyperlokomotion haben können, kann vermutet werden, dass verschiedene 5-HT_{1A}-Rezeptor Populationen im ZNS eine unterschiedliche Rolle bei der Kokain-induzierten Hyperlokomotion spielen. Eine Hirnareal-spezifische Rolle von anderen 5-HT-Rezeptoren bei Kokain-induzierter Hyperlokomotion konnte bereits für den 5-HT_{1B}- (Przegaliński et al., 2002b), den 5-HT_{2A}-, den 5-HT_{2C}- (McMahon et al., 2001; Filip & Cunningham, 2002), den 5-HT₃- (Herges & Taylor, 2000) und für den 5-HT₄-Rezeptor (McMahon & Cunningham, 1999) gezeigt werden. Möglicherweise müssen die Effekte einer systemischen 5-HT-Rezeptor-Subtyp Aktivierung oder Blockade generell als summative Effekte interpretiert werden, die aus einer Vielzahl von Einzeleffekten in verschiedenen verhaltensrelevanten Hirnstrukturen zusammengesetzt sind, die dem Summeneffekt zum Teil auch entgegengesetzt sein können. Eine Dissoziation zwischen systemischen und lokalen Effekten einer 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung wurde für den Kokain-induzierten Anstieg im Aufrichtverhalten nicht beobachtet. Experiment IV hat gezeigt, dass die Effekte einer systemischen 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung auf den Anstieg im Aufrichtverhalten nach Kokain durch lokale 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung im Hippocampus imitiert werden können. Die summativen Effekte einer 5-HT-Rezeptor Aktivierung könnten demnach auch aus gleichgerichteten Einzeleffekten in unterschiedlichen Hirnarealen zusammengesetzt sein.

3.4.4.3 Hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus und die Effekte von Kokain im serotonergen System

Entgegen der Erwartungen wurde der Kokain-induzierte Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus durch die Aktivierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren deutlich verringert. Die Dosis 8-OH-DPAT, die den stärksten inhibitorischen Effekt auf die Kokain-induzierte Hyperlokomotion hatte, zeigte auch die stärksten inhibitorischen Effekte sowohl auf den Kokain-induzierten 5-HT-Anstieg als auch auf den Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus. Sowohl die systemische als auch die intra-hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung führten damit zu einem verringerten Anstieg der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Hippocampus. Im Hippocampus sind 5-HT_{1A}-Rezeptoren als postsynaptische Rezeptoren in Prinzipalzellen und in GABAergen Interneuronen bekannt (Gulyas et al., 1999). Bisher gibt es keine Befunde, die auch eine Rolle als Autorezeptoren an serotonergen Terminalen nahe legen (Göthert & Schlicker, 1999; Riad et al., 2000). Die hier beobachteten Befunde könnten demnach am wahrscheinlichsten unter der Annahme eines inhibitorischen Feedback-Mechanismus interpretiert werden, wie ihn bereits Aghajanian & Wang (1977) und Blier & De Montigny (1987) postuliert haben. Dieser würde postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus als Teil einer Projektion zu den Raphe´ Nuclei postulieren. Da keine direkte Projektion vom Hippocampus zu den Raphe´ Nuclei bekannt ist, wäre eine solche Feedback-Schleife über eine Projektion vom Hippocampus zur Habenula (Swanson et al., 1987) am wahrscheinlichsten. Es ist bekannt, dass die Habenula über direkte Projektionen zu den Raphe´ Nuclei die Aktivität der serotonergen Neurone modulieren kann (Nishikawa & Scatton, 1984; Kalen et al., 1985). Die Annahme einer Beteiligung postsynaptischer 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus an einer spezifischen Feedback-Schleife vom Hippocampus zu den Raphe´ Nuclei wird auch durch den Verlauf der 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus unterstützt. Ein potenziertes Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus - aber nicht im Nac - nach Kokain-Gabe durch intra-hippocampale Applikation von 1µM 8-OH-DPAT ist ein Indiz für eine weiter verringerte Feuerungsfrequenz der serotonergen Neurone, die den Hippocampus innervieren (Wolf et al., 1985; Hjorth & Magnusson, 1988; Cumming et al., 1992), nicht aber der serotonergen Neurone, die den Nac innervieren (McQuade & Sharp, 1997). Ein Hippocampus-Habenula-Raphe´Nuclei Feedback-Mechanismus würde demnach lediglich die 5-HT-Konzentration bei der Aktivierung des 5-HT-

Systems im Hippocampus, nicht aber bei der Aktivierung des 5-HT-Systems im Nac regulieren.

Obwohl aus Experiment IV eine Beteiligung des Hippocampus an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain hervorgeht, scheint die genaue Rolle des Anstiegs in der 5-HT-Konzentration im Hippocampus nach Kokain wiederum unklar. Die Vermutung, die aus Experiment III abgeleitet wurde, dass der 5-HT-Anstieg im Hippocampus und im Nac die Hyperlokomotion nach Kokain limitiert, kann so für den Hippocampus nicht aufrechterhalten werden. Ansonsten hätte in diesem Experiment, analog zu Experiment III, nach Kokain ebenfalls eine potenzierte Hyperlokomotion bei abgeschwächtem 5-HT-Anstieg im Hippocampus beobachtet werden müssen. Die durch intra-hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung inhibierte 5-HT-Antwort im Hippocampus nach Kokain schließt jedoch eine inhibitorische Rolle des 5-HT-Anstiegs im Nac bei der akuten Kokain-induzierten Hyperlokomotion weiterhin nicht aus.

3.4.4.4 Hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus und spontanes Verhalten

Die intra-hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung hatte in diesem Experiment keinen Einfluss auf die basale Lokomotion und das Aufrichtverhalten. In Experiment III wurde nach systemischer Gabe des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten dagegen ein leichter Anstieg der basalen Lokomotion, nicht jedoch des Aufrichtverhaltens beobachtet. Daraus geht hervor, dass 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus für die Generierung von Lokomotion und Aufrichtverhalten wahrscheinlich nur dann eine Rolle spielen, wenn das 5-HT-System aktiviert ist. In dem Fall sprechen die Befunde aus Experiment IV für eine inhibitorische Rolle, die eine induzierte Verhaltensaktivierung begrenzt. Daraus würde, entsprechend der Ergebnisse aus Experiment III, folgen, dass andere nicht-hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptoren die Verhaltensaktivierung bei Aktivierung des serotonergen Systems noch stärker fördern müssen, um in der Summe wiederum den potenzierenden Effekt einer systemischen 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung zu erhalten.

3.4.4.5 Hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonismus und das serotonerge System

Die intra-hippocampale Applikation des 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten 8-OH-DPAT hatte in diesem Experiment keinen Einfluss auf die basale 5-HT- und 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus. Der inhibitorische Einfluss, den die 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung auf die 5-HT- und 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus haben kann, scheint damit nur für einen aktivierten Zustand des 5-HT-Systems wirksam zu sein. Wie erwartet, hatte die hippocampale 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung ebenfalls keinen Einfluss auf die extrazelluläre 5-HT- und 5-HIAA-Konzentration im Nac, was wiederum die Annahme einer lokal auf den Hippocampus begrenzten Wirkung der 8-OH-DPAT-Applikation für dieses Experiment bestätigt.

4 Zusammenfassende Diskussion und Ausblick

In dieser Arbeit sollte die Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors an den akuten neurochemischen- und Verhaltenseffekten von Kokain untersucht werden. Zunächst konnten im Verhaltensteil die Befunde anderer Autoren (Carey et al., 2000, 2001, 2002; De La Garza & Cunningham, 2000) bestätigt werden. Es wurde gefunden, dass eine systemische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors sowohl die Kokain-induzierte Hyperlokomotion als auch den Anstieg im Aufrichtverhalten inhibieren kann, ohne selber Einfluss auf spontane Lokomotion und Aufrichtverhalten auszuüben. Die Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors allein induzierte jedoch Putzverhalten, dass durch Kokain-Gabe inhibiert wurde. Komplementär zu den Ergebnissen der 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade potenzierte eine systemische Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors Kokain-induzierte Hyperlokomotion, führte aber zu einer Abschwächung des Anstiegs im Aufrichtverhalten. Weiterführend konnte gezeigt werden, dass der Hippocampus und seine 5-HT_{1A}-Rezeptoren an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain beteiligt sind. Die lokale Aktivierung hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren inhibierte sowohl die Hyperlokomotion als auch den Anstieg im Aufrichtverhalten nach Kokain-Gabe. Bezüglich der Hyperlokomotion, aber nicht bezüglich des Aufrichtverhaltens, war der Effekt einer hippocampalen 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung dem Effekt einer systemischen Aktivierung entgegengesetzt. Nach einem Vergleich der Effekte von systemischer und hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade auf die Kokain-induzierte Hyperlokomotion liegt die Vermutung nahe, dass verschiedene 5-HT_{1A}-Rezeptor Populationen im ZNS in unterschiedlicher Weise an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain beteiligt sein könnten, was ähnliche Aussagen für andere 5-HT-Rezeptoren nun auch für den 5-HT_{1A}-Rezeptor nahe legt. Demnach kann angenommen werden, dass die Effekte einer systemischen 5-HT-Rezeptor Aktivierung oder Blockade auf Kokain-induziertes Verhalten eine Summe aus lokalen, Hirnareal-spezifischen Effekten darstellt, wobei diese lokalen Effekte in ihrer Richtung dem Gesamteffekt zum Teil auch entgegengesetzt sein können.

Ein wesentliches Ziel dieser Arbeit war die Aufklärung möglicher neurochemischer Mechanismen für die pharmakologische Manipulation der akuten Verhaltenseffekte von Kokain. Ausgehend von den bisher bekannten neurochemischen Effekten von Kokain wurde zunächst angenommen, dass eine veränderte Verhaltensantwort nach Kokain die Folge einer veränderten dopaminergen Aktivierung im Nac sein müsste

(Kelly & Iversen, 1976; Delfs et al., 1990; Ikemoto, 2002). In dieser Arbeit konnte aber gezeigt werden, dass das nicht der Fall war. Obwohl eine 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade die akute Kokain-induzierte Hyperaktivität hemmte, war der Kokain-induzierte Anstieg der DA-Konzentration im Nac unverändert. Auch der zeitliche Verlauf der DOPAC-Konzentration, die als Indikator für die DA-Syntheseaktivität angesehen werden kann, war durch die 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade nicht verändert. Daraus folgte, dass die Modulation der Verhaltensantwort nach Kokain nicht durch einen dopaminergen Mechanismus im Nac zustande gekommen sein musste. Der nächste Kandidat für die neurochemische Mediierung der Inhibition akuter Kokain-induzierter Hyperaktivität durch 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade war notwendigerweise das serotonerge System (Walsh & Cunningham, 1997). Obwohl Kokain einen starken Einfluss auf die Aktivität des serotonergen Systems hat (Bradberry et al., 1993; Parsons & Justice, 1993; Chen & Reith, 1994; Essman et al., 1994; Teneud et al., 1996; Reith et al., 1997; Rutter et al., 1998; Andrews & Lucki, 2001), wurde 5-HT bisher weniger als DA mit den Verhaltenseffekten von Kokain assoziiert. Für eine Untersuchung der serotonergen Aktivität nach Kokain wurden als Strukturen der Hippocampus und der Nac ausgewählt, die beide Teil einer Projektion sind, welche mit der Generierung spontaner Aktivität assoziiert wird (Mogenson & Nielsen, 1983, 1984). In dieser Arbeit konnte zunächst gezeigt werden, dass Kokain parallel zur Hyperaktivität nicht nur zu einem Anstieg der 5-HT-Konzentration im Nac, sondern auch im Hippocampus führt. Kokain führte gleichzeitig zu einem Absinken der 5-HIAA-Konzentration im Nac, die ein Indikator für die 5-HT-Syntheseaktivität ist, hatte aber keinen Effekt auf die 5-HIAA-Konzentration im Hippocampus. Entsprechend der Erwartungen führte die pharmakologische Blockade des 5-HT_{1A}-Rezeptors zu einem veränderten 5-HT-Anstieg nach Kokain in beiden Hirnstrukturen. Parallel zur Inhibierung der Kokain-induzierten Hyperlokomotion wurde eine Potenzierung des 5-HT-Anstiegs nach Kokain im Hippocampus und Nac gefunden. Der Abfall der 5-HIAA-Konzentration im Nac, aber nicht im Hippocampus, war jedoch tendenziell durch die 5-HT_{1A}-Rezeptor-Blockade verringert. Ausgehend von den bisher bekannten Eigenschaften der 5-HT_{1A}-Rezeptoren im ZNS wurde postuliert, dass die Potenzierung des 5-HT-Anstiegs nach Kokain durch somatodendritische 5-HT_{1A}-Autorezeptoren mediiert sein könnte. Aus einem daraufhin entwickelten Funktionsmodell wurde entsprechend abgeleitet, dass eine Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors parallel zu einer Potenzierung der Hyperlokomotion nach Kokain den

5-HT-Anstieg im Hippocampus und Nac abschwächen sollte. Im darauf folgenden Experiment konnte diese Annahme bestätigt werden. Eine pharmakologische Aktivierung des 5-HT_{1A}-Rezeptors führte tatsächlich zu einem abgeschwächten 5-HT-Anstieg nach Kokain-Gabe im Hippocampus und Nac. Im Nac, aber nicht im Hippocampus, führte sie zudem zu einer tendenziellen Potenzierung des Kokain-induzierten Abfalls der 5-HIAA-Konzentration. Damit konnte das postulierte Funktionsmodell für die 5-HT_{1A}-Rezeptor induzierte Modulation der 5-HT-Antwort nach Kokain zunächst voll bestätigt werden. Nach diesen und anderen Experimenten (Carey et al., 2000, 2001, 2002; De La Garza & Cunningham, 2000) kann mit einiger Sicherheit angenommen werden, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptor sowohl die akuten Verhaltenseffekte als auch die akuten neurochemischen Effekte im serotonergen System nach Kokain-Gabe modulieren kann. Ein funktionaler, d.h. nicht blockierter 5-HT_{1A}-Rezeptor ist demnach eine notwendige Voraussetzung für die Expression der akuten Verhaltenseffekte von Kokain, limitiert aber gleichzeitig die Kokain-induzierte Aktivierung des serotonergen Systems. Um das Funktionsmodell und die Beteiligung des Hippocampus an den Verhaltenseffekten von Kokain weiter zu testen, wurde die Rolle hippocampaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren bei den neurochemischen- und Verhaltenseffekten von Kokain untersucht. Ausgehend vom Funktionsmodell sollte eine selektive 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung im Hippocampus zwar die Verhaltenseffekte von Kokain modulieren, nicht jedoch die Effekte auf das serotonerge System. Beobachtet wurde jedoch, parallel zur Inhibierung der Kokain-induzierten Hyperaktivität, ein ebenfalls abgeschwächter 5-HT-Anstieg im Hippocampus nach Kokain. Kontrollmessungen im Nac zeigten, dass der neurochemische Effekt sehr wahrscheinlich nicht durch eine Diffusion des lokal in den Hippocampus verabreichten 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonisten zustande gekommen ist. Da 5-HT_{1A}-Rezeptoren im Hippocampus keine inhibitorischen Autorezeptoren an serotonergen Terminalen, sondern postsynaptische Rezeptoren sind, musste das Funktionsmodell für die neurochemischen Effekte um einen weiteren Mechanismus ergänzt werden. Die beobachteten neurochemischen Effekte sind demnach am ehesten unter der Annahme der Involvierung postsynaptischer 5-HT_{1A}-Rezeptoren in einer inhibitorischen Feedback-Schleife vom Hippocampus zur Habenula und von dort zu den Raphe´ Nuclei zu interpretieren (Aghajanian & Wang, 1977; Blier & De Montigny, 1987). Inwieweit jedoch die abgeschwächte serotonerge Aktivierung oder/und die lokale 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung im Hippocampus für die Inhibition

der Hyperaktivität nach Kokain verantwortlich ist, kann anhand dieses Experiments nicht genau gesagt werden. Generell legen die hier beschriebenen Experimente aber eine wichtige Rolle der hippocampalen serotonergen Aktivität im Allgemeinen und des hippocampalen 5-HT_{1A}-Rezeptors im Speziellen bei den Verhaltenseffekten von Kokain nahe.

Besonders der beobachtete Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus nach Kokain-Gabe dürfte auch für weiterführende Studien von Interesse sein. Die Applikation von Kokain hat eine Reihe von akuten Verhaltenseffekten, zu denen beim Menschen noch schnell einsetzende Effekte auf das subjektive Empfinden hinzukommen (Resnick et al., 1977; van Dyke et al., 1976; 1978; Javaid et al., 1978). Die Effekte auf das subjektiven Empfinden, die meistens Euphorie mit einschließen, sind im Tierexperiment nicht direkt zu beobachten. Akute Euphorie wird beim Menschen bereits nach einmaliger Einnahme berichtet, kann aber im Tierexperiment nur indirekt über ein langfristig verändertes Verhalten beobachtet werden (z.B. Bardo et al., 1995; Tzschentke, 1998). Eindeutige Verhaltensveränderungen, wie z.B. die Selbstapplikation von Kokain oder die konditionierte Platzpräferenz, sind meistens nach nur einmaliger Kokain-Applikation noch nicht beobachtbar. Erst die wiederholte Gabe bzw. Einnahme führt dazu. Ausgehend von der analogen Ausbildung lang anhaltender Verhaltensveränderungen nach wiederholter Kokain-Applikation beim Mensch und bei der Ratte kann vermutet werden, dass Kokain auch im Tiermodell zu akuten euphorischen Effekten führt. Man nimmt zudem an, dass die akuten euphorischen Effekte von Kokain wesentlich für die wiederholte Einnahme beim Menschen und die für Ausbildung von Kokainsucht sind (Gawin & Ellinwood, 1988; Gawin, 1991; Altman et al., 1996). Jeder akute neurochemische Effekt von Kokain stellt damit zugleich einen potentiellen Mechanismus für die euphorischen Effekte von Kokain dar. Bereits die Befunde von Sora et al. (2001) haben gezeigt, dass der SERT und damit indirekt auch 5-HT für die Verstärkungseffekte von Kokain eine wesentliche Rolle spielen. Ein Anstieg der 5-HT-Konzentration innerhalb des Hippocampus könnte damit nicht nur an den akuten euphorischen Effekten von Kokain beteiligt sein, sondern auch an der Ausbildung lang anhaltender Verhaltensveränderungen. Eine direkte Beteiligung des Hippocampus an lang anhaltenden und zugleich mit Kokainsucht assoziierten Verhaltensveränderungen konnten Vorel et al. (2001) zeigen. Den Autoren gelang es durch theta-Stimulierung des Hippocampus, vorher etabliertes und bereits wieder extinguiertes Kokain-

Suchverhalten auszulösen. Ein Anstieg der 5-HT-Konzentration im Hippocampus nach einmaliger Kokain-Applikation hat zudem nicht nur akute Effekte auf die zelluläre Aktivität im Hippocampus (Colino & Halliwell, 1987; Andrade & Nicoll, 1987; Segal, 1990b) sondern ist möglicherweise auch an zellulärer Plastizität beteiligt, die unter anderem die Grundlage für lang anhaltende Verhaltensveränderungen ist (McGaugh, 2000; Kandel, 2001). Inwieweit Kokain auch zu einem akuten Anstieg der 5-HT-Konzentration in anderen verhaltensrelevanten Strukturen, wie z.B. dem Kortex, führt, ist größtenteils unbekannt. Angesichts der Wirkungsweise von Kokain im serotonergen System ist ein akuter Anstieg der serotonergen Aktivität in allen serotonerg innervierten Hirnarealen wahrscheinlich, die funktionale SERT's exprimieren, d.h. in weiten Teilen des ZNS (Sur et al., 1996).

Die hier durchgeführten Experimente können nur ein erster Schritt bei der Erforschung der Beteiligung des 5-HT_{1A}-Rezeptors und der serotonergen Aktivität in einzelnen Hirngebieten an den langfristigen Verhaltensveränderungen von Kokain sein. Die hier gefundene Beteiligung des 5-HT_{1A}-Rezeptors an den akuten Verhaltenseffekten legt ebenfalls eine solche Beteiligung an den akuten euphorischen Effekten und damit auch an den Verstärkereffekten von Kokain nahe. Es konnte bereits gezeigt werden, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptor Agonist 8-OH-DPAT die Expression Kokain-induzierter konditionierter Platzpräferenz verstärkt (Ali & Kelly, 1996), wobei allerdings die systemische Aktivierung von 5-HT_{1A}-Rezeptoren mit 8-OH-DPAT in niedriger Dosierung (Papp & Willner, 1991) bzw. eine 8-OH-DPAT Applikation in den DRN und MRN selbst eine konditionierte Platzpräferenz induziert (Fletcher et al., 1993). Eine genauere Untersuchung der Beteiligung des 5-HT_{1A}-Rezeptors an den Verstärkereffekten von Kokain, z.B. mittels selektiver 5-HT_{1A}-Rezeptor Antagonisten oder an einem 5-HT_{1A}-Rezeptor Gen knock out Modell (Heisler et al., 1998; Parks et al., 1998; Ramboz et al., 1998), scheint daher vielversprechend für zukünftige Forschungen zu sein. Die Erwartung für eine 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade bzw. Ausschaltung wäre, dass analog zu den entgegengesetzten Effekten auf die Kokain induzierte Hyperlokomotion auch die Effekte auf z.B. Kokain-induzierte konditionierte Platzpräferenz für 5-HT_{1A}-Rezeptor Blockade und Aktivierung einander entgegengesetzt sind. Die hier berichteten neurochemischen Befunde könnten dann ein wichtiges Instrument für die Suche nach einem Mechanismus sein, der die akuten euphorischen Effekte und die Langzeitverhaltenseffekte von Kokain inhibieren könnte.

Das Verständnis der neurochemischen Prozesse, die der Verstärkerwirkung von Kokain zugrunde liegen und die Entwicklung von pharmakologischen Therapien gegen die Kokainsucht, stellen nach wie vor zwei der wichtigsten Ziele in der Erforschung von Kokain dar (Altman et al., 1996). Ein interessanter Befund aus diesen Experimenten ist die Beobachtung, dass 5-HT_{1A}-Rezeptor Aktivierung Kokain-induziertes Verhalten in einander entgegengesetzte Richtungen modulieren kann, abhängig davon, ob sie systemisch oder lokal in einer Hirnstruktur stattfindet. Daraus folgt, dass verschiedene 5-HT_{1A}-Rezeptor Populationen im ZNS unterschiedlich, ja sogar in entgegengesetzter Weise, an den Verhaltenseffekten von Kokain beteiligt sein müssen. Eine mögliche Strategie für die Erforschung potentieller Pharmaka gegen Kokainmissbrauch könnte daher sein, Rezeptor Agonisten oder Antagonisten zu entwickeln, die spezifisch nur an bestimmte 5-HT_{1A}-Rezeptor Populationen binden (z.B. nur an postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren). Damit könnten dann diejenigen Rezeptor Populationen „angesprochen“ werden, die zur Inhibition eines bestimmten nicht erwünschten Verhaltenseffektes von Kokain führen, nicht jedoch solche, die unerwünschte Konsequenzen haben. Voraussetzung dafür wäre aber die genaue Kenntnis der Verhaltenseffekte eines bestimmten Rezeptors in allen Hirngebieten, in denen er exprimiert wird. Für den 5-HT_{1A}-Rezeptor würde das bedeuten, dass seine Beteiligung an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain hinreichend bekannt ist für eine Aktivierung/Inhibierung aller 5-HT_{1A}-Rezeptoren (systemische Aktivierung) und für eine selektive Beeinflussung der Rezeptor-Populationen im DRN, MRN (Herges & Taylor, 1999b) und Hippocampus (Experiment IV). Die Beteiligung anderer 5-HT_{1A}-Rezeptoren an den akuten Verhaltenseffekten von Kokain, z.B. jene in der Amygdala oder im Nac (Verge et al., 1986; Palacios et al., 1990; Pompeiano et al., 1992), müsste in zukünftigen Experimenten untersucht werden.

Für verschiedene andere 5-HT-Rezeptoren wurden ebenfalls divergierende Effekte bei systemischer und lokaler pharmakologischer Manipulation gefunden (McMahon & Cunningham, 1999; Herges & Taylor, 2000; McMahon et al., 2001; Filip & Cunningham, 2002; Przegaliński et al., 2002b), wobei bisher generell nur wenige lokale Effekte im Zusammenhang von 5-HT und Kokain untersucht wurden. Eine mögliche Pharmakotherapie gegen Kokainsucht mittels hoch selektiver 5-HT-Rezeptor Liganden für Hirngebiets-spezifische Rezeptor-Populationen wäre prinzipiell für alle 5-HT-Rezeptor Familien denkbar.

5 Literatur

- Aghajanian GK, Wang RY (1977) Habenular and other midbrain raphe afferents demonstrated by a modified retrograde tracing technique. *Brain Res.* 122: 229-242.
- Aghajanian GK, Andrade R (1999) Electrophysiology of 5-HT receptors. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 499-536. Berlin: Springer.
- Agnati LF, Zoli M, Stromberg I, Fuxe K (1995) Intercellular communication in the brain: wiring versus volume transmission. *Neurosci.* 69: 711-726.
- Albert PR (1992) Molecular biology of the 5-HT_{1A} receptor: low-stringency cloning and eukaryotic expression. *J.Chem.Neuroanat.* 5: 283-288.
- Ali I., Kelly, M. E. (1996) 8-OH-DPAT enhances the expression of cocaine-induced place preference. *Br.J.Pharmacol. Suppl.* 119, 207P.
- Altman J, Everitt BJ, Glautier S, Markou A, Nutt D, Oretti R, Phillips GD, Robbins TW (1996) The biological, social and clinical bases of drug addiction: commentary and debate. *Psychopharmacol.* 125: 285-345.
- Amaral DG, Witter MP (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neurosci.* 31: 571-591.
- American Psychiatric Association (1994) *Diagnostic Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th ed. (DSM-IV). Washington DC.
- Anagnostaras SG, Gale GD, Fanselow MS (2001) Hippocampus and contextual fear conditioning: recent controversies and advances. *Hippocampus* 11: 8-17.
- Andrade R, Nicoll RA (1987) Pharmacologically distinct actions of serotonin on single pyramidal neurones of the rat hippocampus recorded in vitro. *J.Physiol.* 394: 99-124.
- Andrews CM, Lucki I (2001) Effects of cocaine on extracellular dopamine and serotonin levels in the nucleus accumbens. *Psychopharmacol.* 155: 221-229.
- Andrews N, Hogg S, Gonzales LE, File SE (1994) 5-HT_{1A} receptors in the median raphe nucleus and dorsal hippocampus may mediate anxiolytic and anxiogenic behaviours respectively. *Eur.J.Pharmacol.* 264: 259-264.
- Arbuthnott GW, Fairbrother IS, Butcher SP (1990) Brain microdialysis studies on the control of dopamine release and metabolism in vivo. *J.Neurosci.Methods* 34: 73-81.
- Aronson SC, Black JE, McDougle CJ, Scanley BE, Jatlow P, Kosten TR, Heninger GR, Price LH (1995) Serotonergic mechanisms of cocaine effects in humans. *Psychopharmacol.* 119: 179-185.

- Arvidsson LE, Hacksell U, Nilsson JL, Hjorth S, Carlsson A, Lindberg P, Sanchez D, Wikstrom H (1981) 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin, a new centrally acting 5-hydroxytryptamine receptor agonist. *J.Med.Chem.* 24: 921-923.
- Assie MB, Koek W (1996) Effects of 5-HT_{1A} receptor antagonists on hippocampal 5-hydroxytryptamine levels: (S)-WAY100135, but not WAY100635, has partial agonist properties. *Eur.J.Pharmacol.* 304: 15-21.
- Auerbach SB, Minzenberg MJ, Wilkinson LO (1989) Extracellular serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid in hypothalamus of the unanesthetized rat measured by in vivo dialysis coupled to high-performance liquid chromatography with electrochemical detection: dialysate serotonin reflects neuronal release. *Brain Res.* 499: 281-290.
- Azmitia EC, McNaughton N, Tsaltas L, Fillenz M, Gray JA (1984) Interactions between hippocampal serotonin and the pituitary-adrenal axis in the septal driving of hippocampal theta-rhythm. *Neuroendocrinology* 39: 471-475.
- Azmitia EC, Whitaker-Azmitia PM (1999) Development and adult plasticity of serotonergic neurons and their target cells. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 11-39. Berlin: Springer.
- Bailey CH, Bartsch D, Kandel ER (1996) Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 93: 13445-13452.
- Bailey CH, Giustetto M, Zhu H, Chen M, Kandel ER (2000) A novel function for serotonin-mediated short-term facilitation in Aplysia: Conversion of a transient, cell-wide homosynaptic Hebbian plasticity into a persistent, protein synthesis-independent synapse-specific enhancement. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 97: 11581-11586.
- Balopole DC, Hansult CD, Dorph D (1979) Effect of cocaine on food intake in rats. *Psychopharmacol.* 64: 121-122.
- Bao JX, Kandel ER, Hawkins RD (1998) Involvement of presynaptic and postsynaptic mechanisms in a cellular analog of classical conditioning at Aplysia sensory-motor neuron synapses in isolated cell culture. *J.Neurosci.* 18: 458-466.
- Barbieri EJ, Ferko AP, DiGregorio GJ, Ruch EK (1992) The presence of cocaine and benzoylecgonine in rat cerebrospinal fluid after the intravenous administration of cocaine. *Life Sci.* 51: 1739-1746.
- Bardgett ME, Henry JD (1999) Locomotor activity and accumbens Fos expression driven by ventral hippocampal stimulation require D1 and D2 receptors. *Neurosci.* 94: 59-70.
- Bardo MT, Rowlett JK, Harris MJ (1995) Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 19: 39-51.
- Bardo MT, Donohew RL, Harrington NG (1996) Psychobiology of novelty seeking and drug seeking behavior. *Behav.Brain Res.* 77: 23-43.

- Bardo MT (1998) Neuropharmacological mechanisms of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Crit.Rev.Neurobiol.* 12: 37-67.
- Barnes NM, Sharp T (1999) A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacol.* 38: 1083-1152.
- Barros M, Mello EL, Huston JP, Tomaz C (2001) Behavioral effects of buspirone in the marmoset employing a predator confrontation test of fear and anxiety. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 68: 255-262.
- Barros M, Mello EL, Maior RS, Müller CP, Carey RJ, Huston JP, Tomaz C Anxiolytic-like effects of the selective silent 5-HT_{1A}-receptor antagonist WAY100635 in non-human primates. eingereicht.
- Bast T, Zhang WN, Heidbreder C, Feldon J (2001a) Hyperactivity and disruption of prepulse inhibition induced by N-metyl-D-aspartate stimulation of the ventral hippocampus and the effects of pretreatment with haloperidol and clozapine. *Neurosci.* 103: 325-335.
- Bast T, Zhang WN, Feldon J (2001b) The ventral hippocampus and fear conditioning in rats. Different anterograde amnesias of fear after tetrodotoxin inactivation and infusion of the GABA(A) agonist muscimol. *Exp.Brain Res.* 139: 39-52.
- Bast T, Zhang WN, Feldon J (2001c) Hippocampus and classical fear conditioning. *Hippocampus* 11: 828-831.
- Baumgarten HG, Grozdanovic Z (1999) Anatomy of central serotonergic projection systems. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 41-90. Berlin: Springer.
- Bayer SA (1985) Hippocampal region. In: *The Rat Nervous System* (Paxinos G, ed), pp 335-352. Sydney: Academic Press.
- Beinfeld MC, Connolly KJ, Pierce RC (2002) Cocaine treatment increases extracellular cholecystokinin (CCK) in the nucleus accumbens shell of awake, freely moving rats, an effect that is enhanced in rats that are behaviorally sensitized to cocaine. *J.Neurochem.* 81: 1021-1027.
- Bendotti C, Samanin R (1986) 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) elicits eating in free-feeding rats by acting on central serotonin neurons. *Eur.J.Pharmacol.* 121: 147-150.
- Benveniste H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NH (1987) Regional cerebral glucose phosphorylation and blood flow after insertion of a microdialysis fiber through the dorsal hippocampus in the rat. *J.Neurochem.* 49: 729-734.
- Benveniste H (1989) Brain microdialysis. *J.Neurochem.* 52: 1667-1679.
- Benveniste H, Hansen AJ (1991) Practical aspects of using microdialysis for determination of brain interstitial concentrations. In: *Microdialysis in the Neurosciences* (Robinson TE, Justice JB, eds), pp 81-100. Amsterdam: Elsevier.

- Berke JD, Hyman SE (2000) Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron* 25: 515-532.
- Bertrand F, Lehmann O, Lazarus C, Jeltsch H, Cassel JC (2000) Intraseptal infusions of 8-OH-DPAT in the rat impairs water-maze performances: effects on memory or anxiety? *Neurosci.Lett.* 279: 45-48.
- Bickerdike MJ, Fletcher A, Marsden CA (1995) Attenuation of CCK-induced aversion in rats on the elevated x-maze by the selective 5-HT_{1A} receptor antagonists (+) WAY100135 and WAY100635. *Neuropharmacol.* 34: 805-811.
- Bidlingmeyer BA (1992) *Practical HPLC Methodology and Applications*. New York: Wiley.
- Bito L, Davson H, Levin E, Murray M, Snider N (1966) The concentrations of free amino acids and other electrolytes in cerebrospinal fluid, in vivo dialysate of brain, and blood plasma of the dog. *J.Neurochem.* 13: 1057-1067.
- Blier P, de Montigny C (1987) Modification of 5-HT neuron properties by sustained administration of the 5-HT_{1A} agonist gepirone: electrophysiological studies in the rat brain. *Synapse* 1: 470-480.
- Blier P, Serrano A, Scatton B (1990) Differential responsiveness of the rat dorsal and median raphe 5-HT-Systems to 5-HT₁ receptor agonists and p-chloroamphetamine. *Synapse* 5: 120-133.
- Blier P, Lista A, de Montigny C (1993a) Differential properties of pre- and postsynaptic 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors in the dorsal raphe and hippocampus: II. Effect of pertussis and cholera toxins. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 265: 16-23.
- Blier P, Lista A, de Montigny C (1993b) Differential properties of pre- and postsynaptic 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors in the dorsal raphe and hippocampus: I. Effect of spiperone. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 265: 7-15.
- Blier P, Pineyro G, el Mansari M, Bergeron R, de Montigny C (1998) Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 861:204-216.
- Blier P, Lavoie N, Haddjeri N (2001) Electrophysiological evidence for the tonic activation of the 5-HT_{1A} autoreceptor in vivo in th rat. *Soc.Neurosci.Abstr.* 27: 124.9.
- Boadle-Biber MC, Johannessen JN, Narasimhachari N, Phan TH (1986) Tryptophan hydroxylase: increase in activity by electrical stimulation of serotonergic neurons. *Neurochem.Int.* 8: 83-92.
- Bockaert J, Fagni L, Dumuis A (1999) 5-HT₄ receptors: an update. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 439-474. Berlin: Springer.

- Boeijinga PH, Mulder AB, Pennartz CM, Manshanden I, Lopes da Silva FH (1993) Responses of the nucleus accumbens following fornix/fimbria stimulation in the rat. Identification and long-term potentiation of mono- and polysynaptic pathways. *Neurosci.* 53: 1049-1058.
- Boix F, Pfister M, Huston JP, Schwarting RK (1994) Substance P decreases extracellular concentrations of acetylcholine in neostriatum and nucleus accumbens in vivo: possible relevance for the central processing of reward and aversion. *Behav. Brain Res.* 63: 213-219.
- Boix F, Sandor P, Nogueira PJ, Huston JP, Schwarting RK (1995) Relationship between dopamine release in nucleus accumbens and place preference induced by substance P injected into the nucleus basalis magnocellularis region. *Neurosci.* 64: 1045-1055.
- Bolam JP, Bennett BD (1995) Microcircuitry of the neostriatum. In: *Molecular and Cellular Mechanisms of Neostriatal Function* (Ariano MA, Surmeier DJ, eds), pp 1-18. Landes.
- Bonaventure P, Nepomuceno D, Kwok A, Chai W, Langlois X, Hen R, Stark K, Carruthers N, Lovenberg TW (2002) Reconsideration of 5-hydroxytryptamine (5-HT)₇ receptor distribution using [(3)H]5-carboxamidotryptamine and [(3)H]8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetraline: analysis in brain of 5-HT(1A) knockout and 5-HT(1A/1B) double-knockout mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 302: 240-248.
- Bonvento G, Scatton B, Claustre Y, Rouquier L (1992) Effect of local injection of 8-OH-DPAT into the dorsal or median raphe nuclei on extracellular levels of serotonin in serotonergic projection areas in the rat brain. *Neurosci. Lett.* 137: 101-104.
- Bosron WF, Dean RA, Brzezinski MR, Pindel EV (1997) Human liver cocaine carboxylesterases. *NIDA Res. Monogr.* 173: 27-34.
- Boulenguez P, Rawlins JN, Chauveau J, Joseph MH, Mitchell SN, Gray JA (1996) Modulation of dopamine release in the nucleus accumbens by 5-HT_{1B} agonists: involvement of the hippocampo-accumbens pathway. *Neuropharmacol.* 35: 1521-1529.
- Bradberry CW, Nobiletti JB, Elsworth JD, Murphy B, Jatlow P, Roth RH (1993) Cocaine and cocaethylene: microdialysis comparison of brain drug levels and effects on dopamine and serotonin. *J. Neurochem.* 60: 1429-1435.
- Branchek TA, Zgombick JM (1999) Molecular biology and potential functional role of 5-HT₅, 5-HT₆, and 5-HT₇ receptors. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 475-498. Berlin: Springer.
- Briley M, Chopin P, Marien M, Moret C (1999) Functional neuropharmacology of compounds acting at 5-HT_{1B/D} receptors. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 269-292. Berlin: Springer.

- Brown P, Molliver ME (2000) Dual serotonin (5-HT) projections to the nucleus accumbens core and shell: relation of the 5-HT transporter to amphetamine-induced neurotoxicity. *J.Neurosci.* 20: 1952-1963.
- Brudzynski SM, Gibson CJ (1997) Release of dopamine in the nucleus accumbens caused by stimulation of the subiculum in freely moving rats. *Brain Res.Bull.* 42: 303-308.
- Bubar MJ, McMahon LR, De Deurwaerdere P, Spampinato U, Cunningham KA (2003) Selective serotonin reuptake inhibitors enhance cocaine-induced locomotor activity and dopamine release in the nucleus accumbens. *Neuropharmacol.* 44, 342-353.
- Bunin MA, Wightman RM (1999) Paracrine neurotransmission in the CNS: involvement of 5-HT. *Trends Neurosci.* 22: 377-382.
- Burns LH, Everitt BJ, Kelley AE, Robbins TW (1994) Glutamate-dopamine interactions in the ventral striatum: role in locomotor activity and responding with conditioned reinforcement. *Psychopharmacol.* 115: 516-528.
- Byrne JH, Kandel ER (1996) Presynaptic facilitation revisited: state and time dependence. *J.Neurosci.* 16: 425-435.
- Caine SB, Humby T, Robbins TW, Everitt BJ (2001) Behavioral effects of psychomotor stimulants in rats with dorsal or ventral subiculum lesions: locomotion, cocaine self-administration, and prepulse inhibition of startle. *Behav.Neurosci.* 115: 880-894.
- Calligaro DO, Eldefrawi ME (1987) Central and peripheral cocaine receptors. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 243: 61-68.
- Cameron DL, Williams JT (1994) Cocaine inhibits GABA release in the VTA through endogenous 5-HT. *J.Neurosci.* 14: 6763-6767.
- Campbell BA, Ballantine P, Lynch G (1971) Hippocampal control of behavioral arousal: duration of lesion effects and possible interactions with recovery after frontal cortical damage. *Exp.Neurol.* 33: 159-170.
- Cao BJ, Rodgers RJ (1997a) Influence of 5-HT_{1A} receptor antagonism on plus-maze behaviour in mice. I. Pindolol enantiomers and pindobind 5-HT_{1A}. *Pharmacol. Biochem.Behav.* 58: 583-591.
- Cao BJ, Rodgers RJ (1997b) Influence of 5-HT_{1A} receptor antagonism on plus-maze behaviour in mice. II. WAY100635, SDZ 216-525 and NAN-190. *Pharmacol. Biochem.Behav.* 58: 593-603.
- Cao BJ, Rodgers RJ (1998a) Comparative effects of novel 5-HT_{1A} receptor ligands, LY293284, LY315712 and LY297996, on plus-maze anxiety in mice. *Psychopharmacol.* 139: 185-194.

- Cao BJ, Rodgers RJ (1998b) Tolerance to acute anxiolysis but no withdrawal anxiogenesis in mice treated chronically with 5-HT_{1A} receptor antagonist, WAY100635. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 23: 247-257.
- Carboni E, Di Chiara G (1989) Serotonin release estimated by transcortical dialysis in freely-moving rats. *Neurosci.* 32: 637-645.
- Carboni E, Spielesoy C, Vacca C, Nosten-Bertrand M, Giros B, Di Chiara G (2001) Cocaine and amphetamine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens of mice lacking the dopamine transporter gene. *J.Neurosci.* 21:RC141: 1-4.
- Carelli RM, Ijames SG, Crumling AJ (2000) Evidence that separate neural circuits in the nucleus accumbens encode cocaine versus "natural" (water and food) reward. *J.Neurosci.* 20: 4255-4266.
- Carey R, Damianopoulos E, DePalma G (2000) The 5-HT(1A) antagonist WAY100635 can block the low-dose locomotor stimulant effects of cocaine. *Brain Res.* 862: 242-246.
- Carey RJ, Damianopoulos E (1998) Cocaine stimulant effects: role of 5HT_{1A} receptors. *Soc.Neurosci.Abstr.* 24:861.9.
- Carey RJ, DePalma G, Damianopoulos E (2001) Cocaine and serotonin: a role for the 5-HT(1A) receptor site in the mediation of cocaine stimulant effects. *Behav.Brain Res.* 126: 127-133.
- Carey RJ, DePalma G, Damianopoulos E (2002) 5-HT_{1A} agonist/antagonist modification of cocaine stimulant effects: implications for cocaine mechanisms. *Behav.Brain Res.* 132: 37-46.
- Carli M, Prontera C, Samanin R (1989) Effect of 5-HT_{1A} agonists on stress-induced deficit in open field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. *Neuropharmacol.* 28: 471-476.
- Carli M, Samanin R (1992) 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin impairs spatial learning in a water maze: role of postsynaptic 5-HT_{1A} receptors. *Br.J.Pharmacol.* 105: 720-726.
- Carli M, Lazarova M, Tatarczynska E, Samanin R (1992) Stimulation of 5-HT_{1A} receptors in the dorsal hippocampus impairs acquisition and performance of a spatial task in a water maze. *Brain Res.* 595: 50-56.
- Carli M, Luschi R, Garofalo P, Samanin R (1995a) 8-OH-DPAT impairs spatial but not visual learning in a water maze by stimulating 5-HT_{1A} receptors in the hippocampus. *Behav.Brain Res.* 67: 67-74.
- Carli M, Luschi R, Samanin R (1995b) (S)-WAY 100135, a 5-HT_{1A} receptor antagonist, prevents the impairment of spatial learning caused by intrahippocampal scopolamine. *Eur.J.Pharmacol.* 283: 133-139.

- Carroll ME, Lac ST, Asencio M, Kragh R (1990) Fluoxetine reduces intravenous cocaine self-administration in rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 35: 237-244.
- Casadio A, Martin KC, Giustetto M, Zhu H, Chen M, Bartsch D, Bailey CH, Kandel ER (1999) A transient, neuron-wide form of CREB-mediated long-term facilitation can be stabilized at specific synapses by local protein synthesis. *Cell* 99: 221-237.
- Casanovas JM, Artigas F (1996) Differential effects of ipsapirone on 5-hydroxytryptamine release in the dorsal and median raphe neuronal pathways. *J.Neurochem.* 67: 1945-1952.
- Casanovas JM, Lesourd M, Artigas F (1997) The effect of the selective 5-HT_{1A} agonists alnespirone (S-20499) and 8-OH-DPAT on extracellular 5-hydroxytryptamine in different regions of rat brain. *Br.J.Pharmacol.* 122: 733-741.
- Castanon N, Scearce-Levie K, Lucas JJ, Rocha B, Hen R (2000) Modulation of the effects of cocaine by 5-HT_{1B} receptors: a comparison of knockouts and antagonists. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 67: 559-566.
- Cervo L, Pozzi L, Samanin R (1996) 5-HT₃ receptor antagonists do not modify cocaine place conditioning or the rise in extracellular dopamine in the nucleus accumbens of rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 55: 33-37.
- Charrier D, Dangoumau L, Hamon M, Puech AJ, Thiebot MH (1994) Effects of 5-HT_{1A} receptor ligands on a safety signal withdrawal procedure of conflict in the rat. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 48: 281-289.
- Chen NH, Reith ME (1994) Autoregulation and monoamine interactions in the ventral tegmental area in the absence and presence of cocaine: a microdialysis study in freely moving rats. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 271: 1597-1610.
- Chen NH, Reith ME (1995) Monoamine interactions measured by microdialysis in the ventral tegmental area of rats treated systemically with (+/-)-8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin. *J.Neurochem.* 64: 1585-1597.
- Cheng FC, Kuo JS (1995) High-performance liquid chromatographic analysis with electrochemical detection of biogenic amines using microbore columns. *J.Chromatogr.B Biomed.Appl.* 665: 1-13.
- Clapp-Lilly KL, Roberts RC, Duffy LK, Irons KP, Hu Y, Drew KL (1999) An ultrastructural analysis of tissue surrounding a microdialysis probe. *J.Neurosci.Methods* 90: 129-142.
- Clark RN, Ashby C-RJ, Dewey SL, Ramachandran PV, Strecker RE (1996) Effect of acute and chronic fluoxetine on extracellular dopamine levels in the caudate-putamen and nucleus accumbens of rat. *Synapse* 23: 125-131.
- Colino A, Halliwell JV (1987) Differential modulation of three separate K-conductances in hippocampal CA1 neurons by serotonin. *Nature* 328: 73-77.

- Collinson N, Dawson GR (1997) On the elevated plus-maze the anxiolytic-like effects of the 5-HT_{1A} agonist, 8-OH-DPAT, but not the anxiogenic-like effects of the 5-HT_{1A} partial agonist, buspirone, are blocked by the 5-HT_{1A} antagonist, WAY100635. *Psychopharmacol.* 132: 35-43.
- Consolo S, Caltavuturo C, Colli E, Recchia M, Di Chiara G (1999) Different sensitivity of in vivo acetylcholine transmission to D1 receptor stimulation in shell and core of nucleus accumbens. *Neurosci.* 89: 1209-1217.
- Cooper SJ, Van der Hoek GA (1993) Cocaine: a microstructural analysis of its effects on feeding and associated behaviour in the rat. *Brain Res.* 608: 45-51.
- Costall B, Kelly ME, Naylor RJ, Onaivi ES (1989) The actions of nicotine and cocaine in a mouse model of anxiety. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 33: 197-203.
- Costall B, Naylor RJ (1999) Neuropharmacology of 5-HT₃ receptor ligands. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 409-438. Berlin: Springer.
- Cousins MS, Salamone JD (1996) Involvement of ventrolateral striatal dopamine in movement initiation and execution: a microdialysis and behavioral investigation. *Neurosci.* 70: 849-859.
- Cousins MS, Seiden LS (2000) The serotonin-1A receptor antagonist WAY-100635 modifies fluoxetine's antidepressant-like profile on the differential reinforcement of low rates 72-s schedule in rats. *Psychopharmacol.* 148: 438-442.
- Cumming P, Brown E, Damsma G, Fibiger H (1992) Formation and clearance of interstitial metabolites of dopamine and serotonin in the rat striatum: an in vivo microdialysis study. *J.Neurochem.* 59: 1905-1914.
- Cunningham KA, Lakoski JM (1988) Electrophysiological effects of cocaine and procaine on dorsal raphe serotonin neurons. *Eur.J.Pharmacol.* 148: 457-462.
- Cunningham KA, Paris JM, Goeders NE (1992) Chronic cocaine enhances serotonin autoregulation and serotonin uptake binding. *Synapse* 11: 112-123.
- Czoty PW, Ginsburg BC, Howell LL (2002) Serotonergic attenuation of the reinforcing and neurochemical effects of cocaine in squirrel monkeys. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 300: 831-837.
- Dahlström A, Fuxe K (1964) Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol.Scand.* 62(Suppl. 232): 1-55.
- De La Garza RD, Cunningham KA (2000) The effects of the 5-hydroxytryptamine(1A) agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin on spontaneous activity, cocaine-induced hyperactivity and behavioral sensitization: a microanalysis of locomotor activity. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 292: 610-617.

- De Souza-Silva MA, Mattern C, Häcker R, Nogueira PJ, Huston JP, Schwarting RK (1997) Intranasal administration of the dopaminergic agonists L-DOPA, amphetamine, and cocaine increases dopamine activity in the neostriatum: a microdialysis study in the rat. *J.Neurochem.* 68: 233-239.
- DeFrance JF, Marchand JE, Stanley JC, Sikes RW, Chronister RB (1980) Convergence of excitatory amygdaloid and hippocampal input in the nucleus accumbens septi. *Brain Res.* 185: 183-186.
- Delfs JM, Schreiber L, Kelley AE (1990) Microinjection of cocaine into the nucleus accumbens elicits locomotor activation in the rat. *J.Neurosci.* 10: 303-310.
- Delgado JM, DeFeudis FV, Roth RH, Ryugo DK, Mitruka BM (1972) Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys. *Arch.Int.Pharmacodyn.Ther.* 198: 9-21.
- Dellu F, Piazza PV, Mayo W, Le Moal M, Simon H (1996) Novelty-seeking in rats: biobehavioral characteristics and possible relationship with the sensation-seeking trait in man. *Neuropsychobiol.* 34: 136-145.
- Descarries L, Umbriaco D (1995) Ultrastructural basis of monoamine and acetylcholine function in CNS. *Sem.Neurosci.* 7: 309-318.
- Deutch AY, Cameron DS (1992) Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell. *Neurosci.* 46: 49-56.
- Di Chiara G, Imperato A (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 85: 5274-5278.
- Di Chiara G (1990) Brain dialysis of neurotransmitters: a commentary. *J.Neurosci. Methods* 34: 29-34.
- Di Chiara G, Morelli M, Consolo S (1994) Modulatory functions of neurotransmitters in the striatum: ACh/dopamine/NMDA interactions. *Trends Neurosci.* 17: 228-233.
- Di Chiara G (1995) Psychobiology of the role of dopamine in drug-abuse and addiction. *Neurosci.Res.Comm.* 17: 133-143.
- Di Chiara G, Tanda G, Carboni E (1996) Estimation of in vivo neurotransmitter release by brain microdialysis. The issue of validity. *Behav.Pharmacol.* 7: 640-657.
- Di Chiara G (2002) Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behav.Brain Res.* 137: 75-114.
- Doherty MD, Pickel VM (2001) Targeting of serotonin 1A receptors to dopaminergic neurons within the parabrachial subdivision of the ventral tegmental area in rat brain. *J.Comp.Neurol.* 433 : 390-400.

- Dourish CT, Hutson PH, Curzon G (1985) Low doses of the putative serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) elicit feeding in the rat. *Psychopharmacol.* 86: 197-204.
- Downs AW, Eddy NB (1932) The effect of repeated doses of cocaine on the rat. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 46: 199-200.
- Dringenberg HC, De-Souza-Silva MA, Rossmüller J, Huston JP, Schwarting RK (1998) Histamine H1 receptor antagonists produce increases in extracellular acetylcholine in rat frontal cortex and hippocampus. *J.Neurochem.* 70: 1750-1758.
- Ehleringer JR, Casale JF, Lott MJ, Ford VL (2000) Tracing the geographical origin of cocaine. *Nature* 408: 311-312.
- Eichenbaum H, Cohen NJ (1988) Representation in the hippocampus: what do hippocampal neurons code? *Trends Neurosci.* 11: 244-248.
- Eichenbaum H (1997) How does the brain organize memories? *Science* 277: 330-332.
- Elliott PJ, Walsh DM, Close SP, Higgins GA, Hayes AG (1990) Behavioural effects of serotonin agonists and antagonists in the rat and marmoset. *Neuropharmacol.* 29: 949-956.
- Epstein DH, Silverman K, Henningfield JE, Preston KL (1999) Low-dose oral cocaine in humans: acquisition of discrimination and time-course of effects. *Behav.Pharmacol.* 10: 531-542.
- Essman WD, Singh A, Lucki I (1994) Serotonergic properties of cocaine: effects on a 5-HT₂ receptor-mediated behavior and on extracellular concentrations of serotonin and dopamine. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 49: 107-113.
- Europäische Beobachtungsstelle für Drogen und Drogensucht (EBDD) (2001) Jahresbericht über den Stand der Drogenproblematik in der Europäischen Union. Luxemburg.
- Evenden JL, Ängeby-Möller K (1990) Effects of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT) on locomotor activity and rearing of mice and rats. *Psychopharmacol.* 102: 485-491.
- Everitt BJ, Wolf ME (2002) Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective. *J.Neurosci.* 22: 3312-3320.
- Fantin G, Bottecchia D (1984) Effect of nucleus accumbens destruction in rat. *Experientia* 40: 573-575.
- Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF (1997) Principles of Neuropsychopharmacology. Sunderland: Sinauer Associates.

- File SE, Gonzales LE, Andrews N (1996) Comparative study of pre- and postsynaptic 5-HT_{1A} receptor modulation of anxiety in two ethological animal tests. *J.Neurosci.* 16: 4810-4815.
- Filip M, Cunningham KA (2002) Serotonin 5-HT_{2C} receptors in nucleus accumbens regulate expression of the hyperlocomotive and discriminative stimulus effects of cocaine. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 71: 745-756.
- Fischman MW, Schuster CR, Javaid J, Hatano Y, Davis J (1985) Acute tolerance development to the cardiovascular and subjective effects of cocaine. *J.Pharmacol. Exp.Ther.* 235: 677-682.
- Fletcher A, Cliffe IA, Dourish CT (1993) Silent 5-HT_{1A} receptor antagonists: utility as research tools and therapeutic agents. *Trends Pharmacol.Sci.* 14: 41-48.
- Fletcher A, Forster EA, Bill DJ, Brown G, Cliffe IA, Hartley JE, Jones DE, McLenachan A, Stanhope KJ, Critchley DJ, Childs KJ, Middlefell VC, Lanfumey L, Corradetti R, Laporte AM, Gozlan H, Hamon M, Dourish CT (1996) Electrophysiological, biochemical, neurohormonal and behavioural studies with WAY-100635, a potent, selective and silent 5-HT_{1A} receptor antagonist. *Behav.Brain Res.* 73: 337-353.
- Fletcher P, Grottick AJ, Higgins G (2002) Differential effects of the 5-HT(2A) receptor antagonist M100,907 and the 5-HT(2C) receptor antagonist SB242,084 on cocaine-induced locomotor activity, cocaine self-administration and cocaine-induced reinstatement of responding. *Neuropsychopharmacol.* 27: 576-586.
- Fletcher PJ (1993) A comparison of the effects of dorsal or median raphe injections of 8-OH-DPAT in three operant tasks measuring response inhibition. *Behav.Brain Res.* 54: 187-197.
- Fletcher PJ, Ming ZH, Higgins GA (1993) Conditioned place preference induced by microinjection of 8-OH-DPAT into the dorsal or median raphe nucleus. *Psychopharmacol.* 113: 31-36.
- Fletcher PJ, Kort KM, Chambers JW (1999) Selective destruction of brain serotonin neurons by 5,7-dihydroxytryptamine increases responding for a conditioned reward. *Psychopharmacol.* 147: 291-299.
- Florin SM, Kuczenski R, Segal DS (1994) Regional extracellular norepinephrine responses to amphetamine and cocaine and effects of clonidine pretreatment. *Brain Res.* 654: 53-62.
- Florin SM, Kuczenski R, Segal DS (1995) Effects of reserpine on extracellular caudate dopamine and hippocampus norepinephrine responses to amphetamine and cocaine: mechanistic and behavioral considerations. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 274: 231-241.
- Fog R (1969) Stereotyped and non-stereotyped behaviour in rats induced by various stimulant drugs. *Psychopharmacologia* 14: 299-304.

- Foltin RW, Fischman MW, Nautiyal C (1990) The effects of cocaine on food intake of baboons before, during, and after a period of repeated desipramine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 36: 869-874.
- Foltin RW, Fischman MW (1991) Smoked and intravenous cocaine in humans: acute tolerance, cardiovascular and subjective effects. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257: 247-261.
- Fornal CA, Veasey AC, McCreary AC, Dourish CT (1994) Single-unit recordings from freely-moving animals provide evidence that WAY-100635, but not (S)-WAY-100135, blocks the action of endogenous serotonin at the 5-HT autoreceptor. *Br. J. Pharmacol.* 112: 92P.
- Fowler JS, Volkow ND, Wolf AP, Dewey SL, Schlyer DJ, Macgregor RR, Hitzemann R, Logan J, Bendriem B, Gatley SJ, et al. (1989) Mapping cocaine binding sites in human and baboon brain in vivo. *Synapse* 4: 371-377.
- Frantz KJ, Hansson KJ, Stouffer DG, Parsons LH (2002) 5-HT(6) receptor antagonism potentiates the behavioral and neurochemical effects of amphetamine but not cocaine. *Neuropharmacol.* 42: 170-180.
- Freud S (1884) Über Coca. In: Sigmund Freud: Schriften über Kokain (Hirschmüller A, ed), pp 43-83. Frankfurt/ M.: Fischer.
- Freund TF, Antal M (1988) GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature* 336: 170-173.
- Freund TF, Gulyas AI, Acsady L, Gorcs T, Toth K (1990) Serotonergic control of the hippocampus via local inhibitory interneurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 8501-8505.
- Freund TF, Gulyas AI (1997) Inhibitory control of GABAergic interneurons in the hippocampus. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 75: 479-487.
- Galloway MP (1990) Regulation of dopamine and serotonin synthesis by acute administration of cocaine. *Synapse* 6: 63-72.
- Gardner EL, Lowinson JH (1993) Drug craving and positive/negative hedonic brain substrates activated by addicting drugs. *Sem. Neurosci.* 5: 359-368.
- Gardner EL (1997) Brain reward mechanisms. In: Substance Abuse (Lowinson JH, Ruiz P, Millman RB, Langrod JG, eds), pp 51-85. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Gawin FH, Kleber HD (1986) Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers. Clinical observations. *Arch. Gen. Psychiatry* 43: 107-113.
- Gawin FH, Ellinwood EH (1988) Cocaine and other stimulants. Actions, abuse, and treatment. *N. Engl. J. Med.* 318: 1173-1182.
- Gawin FH (1991) Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. *Science* 251: 1580-1586.

- Ge J, Barnes NM (1996) 5-HT₄ receptor-mediated modulation of 5-HT release in the rat hippocampus in vivo. *Br.J.Pharmacol.* 117: 1475-1480.
- George FR (1989) Cocaine produces low dose locomotor depressant effects in mice. *Psychopharmacol.* 99: 147-150.
- George FR (1990) Cocaine produces low dose locomotor depressant effects in NBR and F344 rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 37: 795-798.
- Gozlan H, El-Mestikawy S, Pichat L, Glowinski J, Hamon M (1983) Identification of presynaptic serotonin autoreceptors using a new ligand: 3H-PAT. *Nature* 305: 140-142.
- Göthert H, Schlicker E (1999) Regulation of 5-HT release in the CNS by presynaptic 5-HT autoreceptors and by 5-HT heteroreceptors. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 307-350. Berlin: Springer.
- Göthert M, Fink K, Frölich D, Likungu J, Molderings G, Schlicker E, Zentner J (1996) Presynaptic 5-HT auto- and heteroreceptors in the human central and peripheral nervous system. *Behav.Brain Res.* 73: 89-92.
- Graeff FG, Guimaraes FS, De Andrade TG, Deakin JF (1996) Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 54: 129-141.
- Greengard P (2001) The neurobiology of slow synaptic transmission. *Science* 294: 1024-1030.
- Griebel G (1995) 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmacol.Ther.* 65: 319-395.
- Griebel G, Rodgers RJ, Perrault G, Sanger DJ (1999) Behavioural profiles in the mouse defence test battery suggest anxiolytic potential of 5-HT(1A) receptor antagonists. *Psychopharmacol.* 144: 121-130.
- Griebel G, Rodgers RJ, Perrault G, Sanger DJ (2000) The effects of compounds varying in selectivity as 5-HT(1A) receptor antagonists in three rat models of anxiety. *Neuropharmacol.* 39: 1848-1857.
- Groenewegen HJ, Becker NE, Lohman AH (1980) Subcortical afferents of the nucleus accumbens septi in the cat, studied with retrograde axonal transport of horseradish peroxidase and bisbenzimid. *Neurosci.* 5: 1903-1916.
- Groenewegen HJ, Russchen FT (1984) Organization of the efferent projections of the nucleus accumbens to pallidal, hypothalamic, and mesencephalic structures: a tracing and immunohistochemical study in the cat. *J.Comp.Neurol.* 223: 347-367.
- Groenewegen HJ, Vermeulen-Van-der-Zee E, te-Kortschot A, Witter MP (1987) Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neurosci.* 23: 103-120.

- Groenewegen HJ, Berendse HW, Meredith GE, Haber SN, Voorn P, Wolters JG, Lohman AH (1991) Functional anatomy of the ventral, limbic system-innervated striatum. In: *The Mesolimbic Dopamin System: From Motivation to Action* (Willner P, Scheel-Krüger J, eds), pp 19-59. Wiley.
- Grottick AJ, Fletcher PJ, Higgins GA (2000) Studies to investigate the role of 5-HT(2C) receptors on cocaine- and food-maintained behavior. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 295: 1183-1191.
- Guimaraes FS, Del Bel EA, Padovan CM, Netto SM, de Almeida RT (1993) Hippocampal 5-HT receptors and consolidation of stressful memories. *Behav.Brain Res.* 58: 133-139.
- Gulyas AI, Acsady L, Freund TF (1999) Structural basis of the cholinergic and serotonergic modulation of GABAergic neurons in the hippocampus. *Neurochem.Int.* 34: 359-372.
- Haj-Dahmane S, Hamon M, Lanfumey L (1991) K⁺ channel and 5-hydroxytryptamine_{1A} autoreceptor interactions in the rat dorsal raphe nucleus: an in vitro electrophysiological study. *Neurosci.* 41: 495-505.
- Halliday G, Harding A, Paxinos G (1995) Serotonin and tachykinin systems. In: *The Rat Nervous System* (Paxinos G, ed), pp 929-974. San Diego: Academic Press.
- Hamon M, Gozlan H, El-Mestikawy S, Emerit MB, Bolanos F, Schechter L (1990) The central 5-HT_{1A} receptors: pharmacological, biochemical, functional, and regulatory properties. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 600: 114-129.
- Hamon M (1999) The main features of central 5-HT_{1A} receptors. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the brain* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 239-268. Berlin: Springer.
- Hartig PR (1999) Molecular biology and transductional characteristics of 5-HT receptors. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 175-212. Berlin: Springer.
- Harvey JA (1996) Serotonergic regulation of associative learning. *Behav.Brain Res.* 73: 47-50.
- Hasenöhl RU, Wagner U, Huston JP (2002) Hirnmechanismen der Verstärkung. In: *Enzyklopädie der Psychologie: Biologische Grundlagen des Verhaltens* (Elbertz T, Birbaumer N, eds), pp 519-593. Göttingen: Hogrefe.
- Heffner TG, Zigmond MJ, Stricker EM (1977) Effects of dopaminergic agonists and antagonists of feeding in intact and 6-hydroxydopamine-treated rats. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 201: 386-399.
- Heimer L, Wilson RD (1975) The subcortical projections of the allocortex: similarities in the neural associations of the hippocampus, the piriform cortex, and the neocortex. In: *Golgi Centennial Symposium Proceedings* (Santine M, ed), pp 177-193. New York: Raven.

- Heimer L, Van Hoesen GW (1979) Ventral striatum. In: The Neostriatum (Divac I, Oberg E, eds), pp 147-158. Oxford: Pergamon Press.
- Heimer L, Switzer RD, Van Hoesen GW (1982) Ventral striatum and ventral pallidum - components of the motor system? *Trends Neurosci.* 5: 83-87.
- Heimer L (1995) Hippocampal formation. In: Human Brain and Spinal Cord (Heimer L, ed), pp 425-431. Springer: New York.
- Heisler LK, Chu HM, Brennan TJ, Danao JA, Bajwa P, Parsons LH, Tecott LH (1998) Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 95: 15049-15054.
- Herges S, Taylor DA (1998) Involvement of serotonin in the modulation of cocaine-induced locomotor activity in the rat. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 59: 595-611.
- Herges S, Taylor DA (1999a) Modulatory effect of p-chlorophenylalanine microinjected into the dorsal and median raphe nuclei on cocaine-induced behaviour in the rat. *Eur.J.Pharmacol.* 374: 329-340.
- Herges S, Taylor DA (1999b) Modulation of cocaine-induced locomotor activity, rears and head bobs by application of WAY100635 into the dorsal and median raphe nuclei of the rat. *Naunyn Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 360: 129-134.
- Herges S, Taylor DA (2000) Involvement of 5-HT₃ receptors in the nucleus accumbens in the potentiation of cocaine-induced behaviours in the rat. *Br.J.Pharmacol.* 131: 1294-1302.
- Hervas I, Artigas F (1998) Effect of fluoxetine on extracellular 5-hydroxytryptamine in rat brain. Role of 5-HT autoreceptors. *Eur.J.Pharmacol.* 358: 9-18.
- Hervas I, Queiroz CM, Adell A, Artigas F (2000) Role of uptake inhibition and autoreceptor activation in the control of 5-HT release in the frontal cortex and dorsal hippocampus of the rat. *Br.J.Pharmacol.* 130: 160-166.
- Higgins GA, Elliott PJ (1991) Differential behavioural activation following intra-raphé infusion of 5-HT_{1A} receptor agonists. *Eur.J.Pharmacol.* 193: 351-356.
- Hillegaart V, Ahlenius S, Larsson K (1989a) Effects of local application of 5-HT into the median and dorsal raphe nuclei on male rat sexual and motor behavior. *Behav. Brain Res.* 33: 279-286.
- Hillegaart V, Wadenberg ML, Ahlenius S (1989b) Effects of 8-OH-DPAT on motor activity in the rat. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 32: 797-800.
- Hillegaart V, Hjorth S (1989) Median raphe, but not dorsal raphe, application of the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT stimulates rat motor activity. *Eur.J.Pharmacol.* 160: 303-307.

- Hitchcott PK, Phillips GD (1997) Amygdala and hippocampus control dissociable aspects of drug-associated conditioned rewards. *Psychopharmacol.* 131: 187-195.
- Hjorth S, Carlsson A, Lindberg P, Sanchez D, Wikstöm H, Arvidsson LE, Hacksell U, Nilsson JLG (1982) 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin, 8-OH-DPAT, a potent and selective simplified ergot congener with central 5-HT-receptor stimulating activity. *J.Neural.Transm.* 55: 169-188.
- Hjorth S, Magnusson T (1988) The 5-HT 1A receptor agonist, 8-OH-DPAT, preferentially activates cell body 5-HT autoreceptors in rat brain in vivo. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 338: 463-471.
- Hjorth S (1993) Serotonin 5-HT_{1A} autoreceptor blockade potentiates the ability of the 5-HT reuptake inhibitor citalopram to increase nerve terminal output of 5-HT in vivo: a microdialysis study. *J.Neurochem.* 60: 776-779.
- Hjorth S, Auerbach SB (1996) 5-HT_{1A} autoreceptors and the mode of action of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI). *Behav.Brain Res.* 73: 281-283.
- Hoebel BG, Hernandez L, Schwartz DH, Mark GP, Hunter GA (1989) Microdialysis studies of brain norepinephrine, serotonin, and dopamine release during ingestive behavior. Theoretical and clinical implications. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 575: 171-191.
- Hooks MS, Jones GH, Smith AD, Neill DB, Justice JBJ (1991) Response to novelty predicts the locomotor and nucleus accumbens dopamine response to cocaine. *Synapse* 9: 121-128.
- Huston JP (1975) Physiologische und motivationale Aspekte der Verstärkung. In: *Die Psychologie des 20. Jahrhunderts* (Strube G, ed), pp 429-479. Zürich: Kindler.
- Hutson PH, Sarna GS, O'Connell MT, Curzon G (1989) Hippocampal 5-HT synthesis and release in vivo is decreased by infusion of 8-OHDPAT into the nucleus raphe dorsalis. *Neurosci.Lett.* 100: 276-280.
- Ichikawa J, Kuroki T, Kitchen MT, Meltzer HY (1995) R(+)-8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} receptor agonist, inhibits amphetamine-induced dopamine release in rat striatum and nucleus accumbens. *Eur.J.Pharmacol.* 287: 179-184.
- Ichikawa J, Meltzer HY (2000) The effect of serotonin(1A) receptor agonism on antipsychotic drug-induced dopamine release in rat striatum and nucleus accumbens. *Brain Res.* 858: 252-263.
- Ikemoto S (2002) Ventral striatal anatomy of locomotor activity induced by cocaine, D-amphetamine, dopamine and D1/D2 agonists. *Neurosci.* 113: 939-955.
- Imperato A, Obinu MC, Gessa GL (1993) Effects of cocaine and amphetamine on acetylcholine release in the hippocampus and caudate nucleus. *Eur.J.Pharmacol.* 238: 377-381.

- Imperato A, Obinu MC, Mascia MS, Casu MA, Zocchi A, Cabib S, Puglisi-Allegra S (1996) Strain-dependent effects of dopamine agonists on acetylcholine release in the hippocampus: an in vivo study in mice. *Neurosci.* 70: 653-660.
- Invernizzi R, Carli M, Di Clemente A, Samanin R (1991) Administration of 8-hydroxy-2-(Di-n-propylamino)tetralin in raphe nuclei dorsalis and medianus reduces serotonin synthesis in the rat brain: differences in potency and regional sensitivity. *J.Neurochem.* 56: 243-247.
- Invernizzi R, Velasco C, Bramante M, Longo A, Samanin R (1997) Effect of 5-HT_{1A} receptor antagonists on citalopram-induced increase in extracellular serotonin in the frontal cortex, striatum and dorsal hippocampus. *Neuropharmacol.* 36: 467-473.
- Isenschmid DS, Levine BS, Caplan YH (1989) A comprehensive study of the stability of cocaine and its metabolites. *J.Anal.Toxicol.* 13: 250-256.
- Iten PX (1994) *Fahren unter Drogen- oder Medikamenteneinfluss.* Zürich: Universität Zürich.
- Ito C, Onodera K, Sakurai E, Sato M, Watanabe T (1997) Effect of cocaine on the histaminergic neuron system in the rat brain. *J.Neurochem.* 69: 875-878.
- Iversen SD (1984) 5-HT and anxiety. *Neuropharmacol.* 23: 1553-1560.
- Izumi J, Washizuka M, Miura N, Hiraga Y, Ikeda Y (1994) Hippocampal serotonin 5-HT_{1A} receptor enhances acetylcholine release in conscious rats. *J.Neurochem.* 62: 1804-1808.
- Jackson DM, Wallsten CE, Jerning E, Hu PS, Deveney AM (1998) Two selective 5-HT_{1A} receptor antagonists, WAY-100 635 and NDL-249, stimulate locomotion in rats acclimatised to their environment and alter their behaviour: a behavioural analysis. *Psychopharmacol.* 139: 300-310.
- Jackson ME, Moghaddam B (2001) Amygdala regulation of nucleus accumbens dopamine output is governed by the prefrontal cortex. *J.Neurosci.* 21: 676-681.
- Jacobs BL, Klemfuss H (1975) Brain stem and spinal cord mediation of a serotonergic behavioral syndrome. *Brain Res.* 100: 450-457.
- Jacobs BL (1976) An animal model for studying central serotonergic synapses. *Life Sci.* 19: 777-786.
- Jacobs BL, Wilkinson LO, Fornal CA (1990) The role of brain serotonin. *Neuropsychopharmacol.* 3: 473-479.
- Jacobs BL (1991) Serotonin and behavior: emphasis on motor control. *J.Clin.Psychiatry* 52 (Suppl): 17-23.
- Jacobs BL, Azmitia EC (1992) Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol.Rev.* 72: 165-229.

- Jacobs BL, Fornal CA (1993) 5-HT and motor control. *Trends Neurosci.* 16: 346-352.
- Jacobs BL, Fornal CA (1999) Physiology and pharmacology of brain serotonergic neurons. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 91-130. Berlin: Springer.
- Jahromi SS, Schertzer S, Carlen PL (1993) Cocaine actions on rat prefrontal cortical and hippocampal dentate granule neurons in vitro. *Synapse* 14: 121-127.
- Javaid JI, Fischman MW, Schuster CR, Dekirmenjian H, Davis JM (1978) Cocaine plasma concentration: relation to physiological and subjective effects in humans. *Science* 202: 227-228.
- Joh TH (1999) Tryptophan hydroxylase: molecular biology and regulation. In: *Serotonergic Neurons and 5-HT Receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 117-130. Berlin: Springer.
- Johanson CE, Fischman MW (1989) The pharmacology of cocaine related to its abuse. *Pharmacol.Rev.* 41: 3-52.
- Johanson CE, Schuster CR (1995) Cocaine. In: *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* (Bloom FE, Kupfer DJ, eds), pp 1685-1697. New York: Raven Press.
- Johnson EA, Fox JL, Azzaro AJ (1996) The anxiolytic serotonin 5-HT_{1A} receptor agonists buspirone, ipsapirone and gepirone are inhibitors of tyrosine hydroxylation in rat striatum. *Behav.Brain Res.* 73: 331-335.
- Johnston D, Amaral DG (1998) Hippocampus. In: *The Synaptic Organization of the Hippocampus* (Shepherd GM, ed), pp 417-458. Oxford: Oxford University Press.
- Jolas T, Schreiber R, Laporte AM, Chastanet M, De Vry J, Glaser T, Adrien J, Hamon M (1995) Are postsynaptic 5-HT_{1A} receptors involved in the anxiolytic effects of 5-HT_{1A} receptor agonists and in their inhibitory effects on the firing of serotonergic neurons in the rat? *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 272: 920-929.
- Jones BJ, Costall B, Domeney AM, Kelly ME, Naylor RJ, Oakley NR, Tyers MB (1988) The potential anxiolytic activity of GR38032F, a 5-HT₃-receptor antagonist. *Br.J.Pharmacol.* 93: 985-993.
- Jones RS (1993) Entorhinal-hippocampal connections: a speculative view of their function. *Trends Neurosci.* 16: 58-64.
- Jones RT (1997) Pharmacokinetics of cocaine: considerations when assessing cocaine use by urinalysis. *NIDA Res.Monogr.* 175: 221-234.
- Joseph RE, Hold KM, Wilkins DG, Rollins DE, Cone EJ (1999) Drug testing with alternative matrices II. Mechanisms of cocaine and codeine deposition in hair. *J.Anal.Toxicol.* 23: 396-408.

- Kaddis FG, Wallace LJ, Uretsky NJ (1993) AMPA/kainate antagonists in the nucleus accumbens inhibit locomotor stimulatory response to cocaine and dopamine agonists. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 46: 703-708.
- Kalen P, Karlson M, Wiklund L (1985) Possible excitatory amino acid afferents to nucleus raphe dorsalis of the rat investigated with retrograde wheat germ agglutinin and D-[3H]aspartate tracing. *Brain Res.* 360: 285-297.
- Kalivas PW, Sorg BA, Hooks MS (1993) The pharmacology and neural circuitry of sensitization to psychostimulants. *Behav.Pharmacol.* 4: 315-334.
- Kalivas PW, Duffy P (1995) D1 receptors modulate glutamate transmission in the ventral tegmental area. *J.Neurosci.* 15: 5379-5388.
- Kalivas PW, Duffy P (1997) Dopamine regulation of extracellular glutamate in the nucleus accumbens. *Brain Res.* 761: 173-177.
- Kandel ER (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 294: 1030-1038.
- Kankaanpää A, Lillsunde P, Ruotsalainen M, Ahtee L, Seppälä T (1996) 5-HT₃ receptor antagonist MDL 72222 dose-dependently attenuates cocaine- and amphetamine-induced elevations of extracellular dopamine in the nucleus accumbens and the dorsal striatum. *Pharmacol.Toxicol.* 78: 317-321.
- Kankaanpää A, Meririnne E, Seppälä T (2002) 5-HT₃ receptor antagonist MDL 72222 attenuates cocaine- and mazindol-, but not methylphenidate-induced neurochemical and behavioral effects in the rat. *Psychopharmacol.* 159: 341-350.
- Karler R, Calder LD (1992) Excitatory amino acids and the actions of cocaine. *Brain Res.* 582: 143-146.
- Karler R, Calder LD, Thai LH, Bedingfield JB (1994) A dopaminergic-glutamatergic basis for the action of amphetamine and cocaine. *Brain Res.* 658: 8-14.
- Kelland MD, Freeman AS, Rubin J, Chiodo LA (1993) Ascending afferent regulation of rat midbrain dopamine neurons. *Brain Res.Bull.* 31: 539-546.
- Kelley AE, Domesick VB (1982) The distribution of the projection from the hippocampal formation to the nucleus accumbens in the rat: an anterograde- and retrograde-horseradish peroxidase study. *Neurosci.* 7: 2321-2335.
- Kelly PH, Iversen SD (1976) Selective 60HDA-induced destruction of mesolimbic dopamine neurons: abolition of psychostimulant-induced locomotor activity in rats. *Eur.J.Pharmacol.* 40: 45-56.
- Kilpatrick GJ, Hagan RM, Gale JD (1996) 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors in terminal regions of the mesolimbic system. *Behav.Brain Res.* 73: 11-13.

- Kim HS, Park WK, Jang CG, Oh S (1996) Inhibition by MK-801 of cocaine-induced sensitization, conditioned place preference, and dopamine-receptor supersensitivity in mice. *Brain Res.Bull.* 40: 201-207.
- King GR, Joyner CM, Ellinwood EH (1993) Withdrawal from continuous or intermittent cocaine: behavioral responsivity to 5-HT₁ receptor agonists. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 45: 577-587.
- King GR, Joyner CM, Ellinwood EH (1994) 5-HT₃ receptor modulation of behavior during withdrawal from continuous or intermittent cocaine. *Pharmacol.Biochem. Behav.* 47: 399-407.
- King GR, Xiong Z, Douglass S, Ellinwood EH (2000) Long-term blockade of the expression of cocaine sensitization by ondansetron, a 5-HT(3) receptor antagonist. *Eur.J.Pharmacol.* 394: 97-101.
- Kirby LG, Chou-Green JM, Davis K, Lucki I (1997) The effects of different stressors on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid. *Brain Res.* 760: 218-230.
- Koe BK, Weissman A (1966) p-Chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 154: 499-516.
- Koe BK (1976) Molecular geometry of inhibitors of the uptake of catecholamines and serotonin in synaptosomal preparations of rat brain. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 199: 649-661.
- Koob G (1992) Dopamine, addiction and reward. *Sem.Neurosci.* 4: 139-148.
- Koob GF, Sanna PP, Bloom FE (1998) Neuroscience of addiction. *Neuron* 21: 467-476.
- Kraus L, Shaw R, Augustin R, Ritz F (2001) Analyse der Drogentodesfälle in Bayern. München: Institut für Therapieforschung.
- Kreiss DS, Lucki I (1994) Differential regulation of serotonin (5-HT) release in the striatum and hippocampus by 5-HT_{1A} autoreceptors of the dorsal and median raphe nuclei. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 269: 1268-1279.
- Kuhar MJ, Ritz MC, Boja JW (1991) The dopamine hypothesis of the reinforcing properties of cocaine. *Trends Neurosci.* 14: 299-302.
- Kuroki T, Ichikawa J, Dai J, Meltzer HY (1996) R(+)-8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} receptor agonist, inhibits amphetamine-induced serotonin and dopamine release in rat medial prefrontal cortex. *Brain Res.* 743: 357-361.
- Lakoski JM, Cunningham KA (1988) Cocaine interaction with central monoaminergic systems: electrophysiological approaches. *Trends Pharmacol.Sci.* 9: 177-180.
- Le AD, Tomkins D, Higgins G, Quan B, Sellers EM (1997) Effects of 5-HT₃, D₁ and D₂ receptor antagonists on ethanol- and cocaine-induced locomotion. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 57: 325-332.

- Lee EH, Wang FB, Tang YP, Geyer MA (1987) Gabaergic interneurons in the dorsal raphe mediate the effects of apomorphine on serotonergic system. *Brain.Res. Bull* 18: 345-353.
- Legault M, Wise RA (1999) Injections of N-methyl-D-aspartate into the ventral hippocampus increase extracellular dopamine in the ventral tegmental area and nucleus accumbens. *Synapse* 31: 241-249.
- Legault M, Rompre PP, Wise RA (2000) Chemical stimulation of the ventral hippocampus elevates nucleus accumbens dopamine by activating dopaminergic neurons of the ventral tegmental area. *J.Neurosci.* 20: 1635-1642.
- Lejeune F, Millan MJ (1998) Induction of burst firing in ventral tegmental area dopaminergic neurons by activation of serotonin (5-HT)_{1A} receptors: WAY 100,635-reversible actions of the highly selective ligands, flesinoxan and S 15535. *Synapse* 30: 172-180.
- LeSage MG, Stafford D, Glowa JR (1999) Preclinical research on cocaine self-administration: environmental determinants and their interaction with pharmacological treatment. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 23: 717-741.
- Lesch KP (1999) Molecular biology, pharmacology, and genetics of the serotonin transporter: psychobiological and clinical implications. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 671-706. Berlin: Springer.
- Lipska BK, Jaskiw GE, Arya A, Weinberger DR (1992) Serotonin depletion causes long-term reduction of exploration in the rat. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 43: 1247-1252.
- London ED, Stapleton JM, Phillips RL, Grant SJ, Villemagne VL, Liu X, Soria R (1996) PET studies of cerebral glucose metabolism: acute effects of cocaine and long-term deficits in brains of drug abusers. *NIDA Res.Monogr.* 163: 146-158.
- London ED, Bonson KR, Ernst M, Grant S (1999) Brain imaging studies of cocaine abuse: implications for medication development. *Crit.Rev.Neurobiol.* 13: 227-242.
- Lucas G, Bonhomme N, De Deurwaerdere P, Le Moal M, Spampinato U (1997) 8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} agonist and ritanserin, a 5-HT_{2A/C} antagonist, reverse haloperidol-induced catalepsy in rats independently of striatal dopamine release. *Psychopharmacol.* 131: 57-63.
- Lucki I, Ward HR, Frazer A (1989) Effect of 1-(m-chlorophenyl)piperazine and 1-(m-trifluoromethylphenyl)piperazine on locomotor activity. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 249: 155-164.
- Lucki I, Wieland S (1990) 5-Hydroxytryptamine_{1A} receptors and behavioral responses. *Neuropsychopharmacol.* 3: 481-493.

- Lucki I (1998) The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biol.Psychiatry* 44: 151-162.
- Ludvig N, Potter PE, Fox SE (1994) Simultaneous single-cell recording and microdialysis within the same brain site in freely behaving rats: a novel neurobiological method. *J.Neurosci.Methods* 55: 31-40.
- Ludvig N (1997) Microdialysis-coupled place cell detection in the hippocampus: a new strategy for the search for cognition enhancer drugs. *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry* 21: 249-271.
- Madden JA, Powers RH (1990) Effect of cocaine and cocaine metabolites on cerebral arteries in vitro. *Life Sci.* 47: 1109-1114.
- Madden JA, Konkol RJ, Keller PA, Alvarez TA (1995) Cocaine and benzoylecgonine constrict cerebral arteries by different mechanisms. *Life Sci.* 56: 679-686.
- Marsden CA, Joseph MH (1986) Biogenic amines. In: *HPLC of Small Molecules* (Lim CK, ed), pp 29-47. Oxford: IRL Press.
- Martin WR (1977) General problems of drug abuse and drug dependence. In: *Drug Addiction* (Martin WR, ed), pp 3-40. Berlin: Springer.
- Maurel Remy S, Schreiber R, Dalmus M, De Vry J (1996) Somatodendritic 5-HT_{1A} receptors are critically involved in the anxiolytic effects of 8-OH-DPAT. *Psychopharmacol.* 125, 89-91.
- McBride WJ, Murphy JM, Ikemoto S (1999) Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behav.Brain Res.* 101: 129-152.
- McCreary AC, Cunningham KA (1999) Effects of the 5-HT_{2C/2B} antagonist SB 206553 on hyperactivity induced by cocaine. *Neuropsychopharmacol.* 20: 556-564.
- McGaugh JL (2000) Memory - a century of consolidation. *Science* 287: 248-251.
- McMahon LR, Cunningham KA (1999) Antagonism of 5-hydroxytryptamine(4) receptors attenuates hyperactivity induced by cocaine: putative role for 5-hydroxytryptamine(4) receptors in the nucleus accumbens shell. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 291: 300-307.
- McMahon LR, Cunningham KA (2001) Antagonism of 5-hydroxytryptamine(2a) receptors attenuates the behavioral effects of cocaine in rats. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 297: 357-363.
- McMahon LR, Filip M, Cunningham KA (2001) Differential regulation of the mesoaccumbens circuit by serotonin 5-hydroxytryptamine (5-HT)_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *J.Neurosci.* 21: 7781-7787.

- McMillen BA, Scott SM, Williams HL, Sanghera MK (1987) Effects of gepirone, an aryl-piperazine anxiolytic drug, on aggressive behavior and brain monoaminergic neurotransmission. *Naunyn Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 335: 454-464.
- McNeish CS, Svingos AL, Hitzemann R, Strecker RE (1993) The 5-HT₃ antagonist zacopride attenuates cocaine-induced increases in extracellular dopamine in rat nucleus accumbens. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 45: 759-763.
- McQuade R, Sharp T (1997) Functional mapping of dorsal and median raphe 5-hydroxytryptamine pathways in forebrain of the rat using microdialysis. *J. Neurochem.* 69: 791-796.
- Meller E, Goldstein M, Bohmaker K (1990) Receptor reserve for 5-hydroxytryptamine_{1A}-mediated inhibition of serotonin synthesis: possible relationship to anxiolytic properties of 5-hydroxytryptamine_{1A} agonists. *Mol.Pharmacol.* 37: 231-237.
- Meneses A, Hong E (1999) 5-HT_{1A} receptors modulate the consolidation of learning in normal and cognitively impaired rats. *Neurobiol.Learn.Mem.* 71: 207-218.
- Mengod G, Placios JM, Wiederhold KH, Hoyer D (1999) 5-Hydroxytryptamine receptor histochemistry: comparison of receptor mRNA distribution and radioligand autoradiography in the brain. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 213-238. Berlin: Springer.
- Meredith GE, Wouterlood FG (1990) Hippocampal and midline thalamic fibers and terminals in relation to the choline acetyltransferase-immunoreactive neurons in nucleus accumbens of the rat: a light and electron microscopic study. *J.Comp.Neurol.* 296: 204-221.
- Meredith GE, Ypma P, Zahm DS (1995) Effects of dopamine depletion on the morphology of medium spiny neurons in the shell and core of the rat nucleus accumbens. *J.Neurosci.* 15: 3808-3820.
- Meyer VR (1996) *Practical High-Performance Liquid Chromatography*. Chichester: Wiley.
- Millan MJ, Hjorth S, Samanin R, Schreiber R, Jaffard R, De Ladonchamps B, Veiga S, Goument B, Peglion JL, Spedding M, Brocco M (1997) S 15535, a novel benzodioxopiperazine ligand of serotonin (5-HT)_{1A} receptors: II. Modulation of hippocampal serotonin release in relation to potential anxiolytic properties. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 282: 148-161.
- Milner B, Squire LR, Kandel ER (1998) *Cognitive neuroscience and the study of memory*. *Neuron* 20: 445-468.
- Milner PM (1991) Brain-stimulation reward: a review. *Can.J.Psychol.* 45: 1-36.
- Misane I, Johansson C, Ogren SO (1998) Analysis of the 5-HT_{1A} receptor involvement in passive avoidance in the rat. *Br.J.Pharmacol.* 125: 499-509.

- Mittman SM, Geyer MA (1989) Effects of 5HT-1A agonists on locomotor and investigatory behaviors in rats differ from those of hallucinogens. *Psychopharmacol.* 98: 321-329.
- Mogenson GJ, Jones DL, Yim CY (1980) From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog.Neurobiol.* 14: 69-97.
- Mogenson GJ, Nielsen MA (1983) Evidence that an accumbens to subpallidal GABAergic projection contributes to locomotor activity. *Brain Res.Bull.* 11: 309-314.
- Mogenson GJ, Nielsen M (1984) A study of the contribution of hippocampal-accumbens-subpallidal projections to locomotor activity. *Behav.Neural.Biol.* 42: 38-51.
- Mokler DJ, Lariviere D, Johnson DW, Theriault NL, Bronzino JD, Dixon M, Morgane PJ (1998) Serotonin neuronal release from dorsal hippocampus following electrical stimulation of the dorsal and median raphe nuclei in conscious rats. *Hippocampus* 8: 262-273.
- Molina PE, Ahmed N, Gatley J, Volkow ND, Abumrad NN (2001) L-tryptophan attenuation of the dopaminergic and behavioral responses to cocaine. *Life Sci.* 69: 1897-1906.
- Moreau JL, Griebel G, Jenck F, Martin JR, Widmer U, Haefely WE (1992) Behavioral profile of the 5HT1A receptor antagonist (S)-UH-301 in rodents and monkeys. *Brain Res.Bull.* 29: 901-904.
- Morikawa H, Manzoni OJ, Crabbe JC, Williams JT (2000) Regulation of central synaptic transmission by 5-HT(1B) auto- and heteroreceptors. *Mol.Pharmacol.* 58: 1271-1278.
- Morrow BA, Roth RH (1996) Serotonergic lesions alter cocaine-induced locomotor behavior and stress-activation of the mesocorticolimbic dopamine system. *Synapse* 23: 174-181.
- Mulder AB, Manshanden I, Vos PE, Wolterink G, van Ree JM, Lopes-da-Silva FH (1996) Modifications in glutamatergic transmission after dopamine depletion of the nucleus accumbens. A combined in vivo/in vitro electrophysiological study in the rat. *Neurosci.* 72: 1009-1021.
- Muntaner C, Kumor KM, Nagoshi C, Jaffe JH (1989) Intravenous cocaine infusions in humans: dose responsivity and correlations of cardiovascular vs. subjective effects. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 34: 697-703.
- Nestler EJ, Aghajanian GK (1997) Molecular and cellular basis of addiction. *Science* 278: 58-63.
- Netto SM, Guimaraes FS (1996) Role of hippocampal 5-HT1A receptors on elevated plus maze exploration after a single restraint experience. *Behav.Brain Res.* 77: 215-218.

- Newman AH, Allen AC, Izenwasser S, Katz JL (1994) Novel 3 alpha-(diphenylmethoxy)tropane analogs: potent dopamine uptake inhibitors without cocaine-like behavioral profiles. *J.Med.Chem.* 37: 2258-2261.
- Nilsson OG, Leanza G, Björklund A (1992) Acetylcholine release in the hippocampus: regulation by monoaminergic afferents as assessed by in vivo microdialysis. *Brain Res.* 584: 132-140.
- Nishikawa T, Scatton B (1984) The inhibitory GABAergic influence on striatal serotonergic neurons depends upon the habenulo-raphé pathways. *Brain Res.* 304: 157-161.
- Nomikos GG, Arborelius L, Hook BB, Hacksell U, Svensson TH (1996) The 5-HT_{1A} receptor antagonist (S)-UH-301 decreases dopamine release in the rat nucleus accumbens and striatum. *J.Neural.Transm.Gen.Sect.* 103: 541-554.
- Normann C, Peckys D, Chakalova K, Bischofberger J (2001) Selective control of associative long-term depression by serotonin in the hippocampus. *Soc.Neurosci.Abstr.* 27: 682.11.
- O'Donnell P, Grace AA (1995) Synaptic interactions among excitatory afferents to nucleus accumbens neurons: hippocampal gating of prefrontal cortical input. *J.Neurosci.* 15: 3622-3639.
- O'Keefe J (1976) Place units in the hippocampus of the freely moving rat. *Exp.Neurol.* 51: 78-109.
- O'Keefe J, Nadel L (1978) *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford: Oxford University Press.
- O'Neill MF, Heron-Maxwell CL, Shaw G (1999) 5-HT₂ receptor antagonism reduces hyperactivity induced by amphetamine, cocaine, and MK-801 but not D₁ agonist C-APB. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 63: 237-243.
- Ohuoha DC, Schindler CW, Rothman RB (1998) Serotonin-4 receptor antagonists reverse cocaine-induced cardiac arrhythmia. *Life Sci.* 63: 1673-1678.
- Olive MF, Koenig HN, Nannini MA, Hodge CW (2001) Stimulation of endorphin neurotransmission in the nucleus accumbens by ethanol, cocaine, and amphetamine. *J.Neurosci.* 21:RC184: 1-5.
- Oliveto AH, Rosen MI, Woods SW, Kosten TR (1995) Discriminative stimulus, self-reported and cardiovascular effects of orally administered cocaine in humans. *J. Pharmacol.Exp.Ther.* 272: 231-241.
- Onaivi ES, Bishop-Robinson C, Motley ED, Chakrabarti A, Chirwa SS (1996) Neurobiological actions of cocaine in the hippocampus. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 801: 76-94.
- Palacios JM, Waeber C, Hoyer D, Mengod G (1990) Distribution of serotonin receptors. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 600: 36-52.

- Pap A, Bradberry CW (1995) Excitatory amino acid antagonists attenuate the effects of cocaine on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 274: 127-133.
- Papp M, Willner P (1991) 8-OH-DPAT-induced place preference and place aversion: effects of PCPA and dopamine antagonists. *Psychopharmacol.* 103: 99-102.
- Parent A, Poitras D, Dube´ L (1984) Comparative anatomy of central monoaminergic systems. In: *Handbook of Chemical Neuroanatomy. Vol 2: Classical Transmitters in the CNS, Part I* (Björklund A, Hökfeld T, eds), pp 409-439. Amsterdam: Elsevier.
- Parks CL, Robinson PS, Sibille E, Shenk T, Toth M (1998) Increased anxiety of mice lacking the serotonin1A receptor. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 95: 10734-10739.
- Parsons LH, Justice JB (1993) Serotonin and dopamine sensitization in the nucleus accumbens, ventral tegmental area, and dorsal raphe nucleus following repeated cocaine administration. *J.Neurochem.* 61: 1611-1619.
- Parsons LH, Koob GF, Weiss F (1999) RU 24969, a 5-HT1B/1A receptor agonist, potentiates cocaine-induced increases in nucleus accumbens dopamine. *Synapse* 32: 132-135.
- Paxinos G, Watson C (1986) *The Rat Brain in Stereotactic Coordinates*. New York: Academic Press.
- Pearlson GD, Jeffery PJ, Harris GJ, Ross CA, Fischman MW, Camargo EE (1993) Correlation of acute cocaine-induced changes in local cerebral blood flow with subjective effects. *Am.J.Psychiatry* 150: 495-497.
- Peltier R, Schenk S (1993) Effects of serotonergic manipulations on cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacol.* 110: 390-394.
- Pennartz CM, Ameerun RF, Groenewegen HJ, Lopes da Silva FH (1993) Synaptic plasticity in an in vitro slice preparation of the rat nucleus accumbens. *Eur.J.Neurosci.* 5: 107-117.
- Pennartz CM, Groenewegen HJ, Lopes-da-Silva FH (1994) The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an integration of behavioural, electrophysiological and anatomical data. *Prog.Neurobiol.* 42: 719-761.
- Pepper JP, Baumann MH, Ayestas M, Rothman RB (2001) Inhibition of MAO-A fails to alter cocaine-induced increases in extracellular dopamine and norepinephrine in rat nucleus accumbens. *Mol.Brain Res.* 87: 184-189.
- Peter D, Finn JP, Merickel A, Liu Y, Edwards RH (1999) Molecular analysis of serotonin packing into secretory vesicles. In: *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS* (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 131-152. Berlin: Springer.

- Pettit HO, Ettenberg A, Bloom FE, Koob GF (1984) Destruction of dopamine in the nucleus accumbens selectively attenuates cocaine but not heroin self-administration in rats. *Psychopharmacol.* 84: 167-173.
- Pitts DK, Marwah J (1986) Electrophysiological effects of cocaine on central monoaminergic neurons. *Eur.J.Pharmacol.* 131: 95-98.
- Pitts DK, Marwah J (1987) Cocaine modulation of central monoaminergic neurotransmission. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 26: 453-461.
- Pompeiano M, Palacios JM, Mengod G (1992) Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT_{1A} receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. *J.Neurosci.* 12: 440-453.
- Pontieri FE, Tanda G, Di Chiara G (1995) Intravenous cocaine, morphine, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with the "core" of the rat nucleus accumbens. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 92: 12304-12308.
- Post RM, Kotin J, Goodwin FK (1974) The effects of cocaine on depressed patients. *Am.J.Psychiatry* 131: 511-517.
- Pradhan S, Roy SN, Pradhan SN (1978) Correlation of behavioral and neurochemical effects of acute administration of cocaine in rats. *Life Sci.* 22: 1737-1743.
- Przegaliński E, Filip M (1997) Stimulation of serotonin (5-HT)_{1A} receptors attenuates the locomotor, but not the discriminative, effects of amphetamine and cocaine in rats. *Behav.Pharmacol.* 8: 699-706.
- Przegaliński E, Siwanowicz J, Papla I, Filip M (2002a) Effects of 5-HT_{1B} receptor ligands microinjected into the accumbal shell or core on the sensitization to cocaine in rats. *Eur.Neuropsychopharmacol.* 12: 387-396.
- Przegaliński E, Filip M, Papla I, Czepiel K (2002b) Effects of 5-HT_{1B} receptor ligands microinjected into the accumbal shell or core on the cocaine-induced locomotor hyperactivity in rats. *J.Physiol.Pharmacol.* 53: 383-394.
- Pulvirenti L, Swerdlow NR, Koob GF (1989) Microinjection of a glutamate antagonist into the nucleus accumbens reduces psychostimulant locomotion in rats. *Neurosci.Lett.* 103: 213-218.
- Pulvirenti L, Swerdlow NR, Koob GF (1991) Nucleus accumbens NMDA antagonist decreases locomotor activity produced by cocaine, heroin or accumbens dopamine, but not caffeine. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 40: 841-845.
- Pulvirenti L, Diana M (2001) Drug dependence as a disorder of neural plasticity: focus on dopamine and glutamate. *Rev.Neurosci.* 12: 141-158.
- Quirion R, Richard J (1987) Differential effects of selective lesions of cholinergic and dopaminergic neurons on serotonin-type 1 receptors in rat brain. *Synapse* 1: 124-130.

- Racke K, Bohm E, Muscholl E (1987) The role of cytoplasmic (newly synthesized) dopamine for the spontaneous and electrically evoked release of dopamine and its metabolites from the isolated neurointermediate lobe of the rat pituitary gland in vitro. *Naunyn Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.* 335: 21-27.
- Ramboz S, Oosting R, Amara DA, Kung HF, Blier P, Mendelsohn M, Mann JJ, Brunner D, Hen R (1998) Serotonin receptor 1A knockout: an animal model of anxiety-related disorder. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 95: 14476-14481.
- Ramsey PH (1993) Multiple comparisons of independent means. In: *Applied analysis of variance in behavioral science* (Edwards LK, ed), pp 25-61. New York: Marcel Dekker.
- Ranck JB (1973) Studies on single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. I. Behavioral correlates and firing repertoires. *Exp.Neurol.* 41: 461-531.
- Rapoza D, Woolverton WL (1991) Attenuation of the effects of cocaine on milk consumption in rats by dopamine antagonists. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 40: 133-137.
- Rector DM, Poe GR, Harper RM (1993) Imaging of hippocampal and neocortical neural activity following intravenous cocaine administration in freely behaving cats. *Neurosci.* 54: 633-641.
- Reid MS, Hsu K, Berger SP (1997) Cocaine and amphetamine preferentially stimulate glutamate release in the limbic system: studies on the involvement of dopamine. *Synapse* 27: 95-105.
- Reith ME, Sershen H, Allen DL, Lajtha A (1983) A portion of [3H]cocaine binding in brain is associated with serotonergic neurons. *Mol.Pharmacol.* 23: 600-606.
- Reith ME (1990) 5-HT₃ receptor antagonists attenuate cocaine-induced locomotion in mice. *Eur.J.Pharmacol.* 186: 327-330.
- Reith ME, Wiener HL, Fischette CT (1991) Sertraline and cocaine-induced locomotion in mice. I. Acute studies. *Psychopharmacol.* 103: 297-305.
- Reith ME, Li MY, Yan QS (1997) Extracellular dopamine, norepinephrine, and serotonin in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of freely moving rats during intracerebral dialysis following systemic administration of cocaine and other uptake blockers. *Psychopharmacol.* 134: 309-317.
- Resnick RB, Kestenbaum RS, Schwartz LK (1977) Acute systemic effects of cocaine in man: a controlled study by intranasal and intravenous routes. *Science* 195: 696-698.
- Rex A, Marsden CA, Fink H (1993) Effect of diazepam on cortical 5-HT release and behaviour in the guinea-pig on exposure to the elevated plus maze. *Psychopharmacol.* 110: 490-496.

- Riad M, Garcia S, Watkins KC, Jodoin N, Doucet E, Langlois X, El-Mestikawy S, Hamon M, Descarries L (2000) Somatodendritic localization of 5-HT_{1A} and preterminal axonal localization of 5-HT_{1B} serotonin receptors in adult rat brain. *J.Comp.Neurol.* 417: 181-194.
- Richter-Levin G, Segal M (1988) Serotonin releasers modulate reactivity of the rat hippocampus to afferent stimulation. *Neurosci.Lett.* 94: 173-176.
- Richter-Levin G, Segal M (1990) Effects of serotonin releasers on dentate granule cell excitability in the rat. *Exp.Brain Res.* 82: 199-207.
- Ritz MC, Cone EJ, Kuhar MJ (1990) Cocaine inhibition of ligand binding at dopamine, norepinephrine and serotonin transporters: a structure-activity study. *Life Sci.* 46: 635-645.
- Robbins TW, Cador M, Taylor JR, Everitt BJ (1989) Limbic-striatal interactions in reward-related processes. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 13: 155-162.
- Robbins TW, Everitt BJ (1992) Functions of dopamine in the dorsal and ventral striatum. *Sem.Neurosci.* 4: 119-127.
- Robbins TW, Everitt BJ (1999) Drug addiction: bad habits add up. *Nature* 398: 567-570.
- Robinson SE, Maher JR, McDowell KP, Kunko PM (1995) Effects of cocaine and the cocaine analog CFT on glutamatergic neurons. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 50: 627-633.
- Robinson SE, Kunko PM, Smith JA, Wallace MJ, Mo Q, Maher JR (1997) Extracellular aspartate concentration increases in nucleus accumbens after cocaine sensitization. *Eur.J.Pharmacol.* 319: 31-36.
- Robinson TE, Justice JB (1991) *Microdialysis in the Neurosciences*. Amsterdam: Elsevier.
- Robinson TE, Berridge KC (1993) The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res.Rev.* 18: 247-291.
- Rocha BA, Fumagalli F, Gainetdinov RR, Jones SR, Ator R, Giros B, Miller GW, Caron MG (1998) Cocaine self-administration in dopamine-transporter knockout mice [published erratum appears in: *Nat.Neurosci.* 1998 Aug;1(4):330]. *Nat.Neurosci.* 1: 132-137.
- Rolls ET, Williams GV (1988) Neuronal activity in the ventral striatum of the primate. In: *Basal Ganglia II: Advances in Behavioural Biology* (Carpenter MB, Jayaraman A, eds), pp 349-356. London: Plenum.
- Ropert N (1988) Inhibitory action of serotonin in CA1 hippocampal neurons in vitro. *Neurosci.* 26: 69-81.

- Roth BL, Hyde EG (1999) Pharmacology of 5-HT₂ receptors. In: Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS (Baumgarten HG, Göthert H, eds), pp 367-394. Berlin: Springer.
- Rothman RB, Grieg N, Kim A, De Costa BR, Rice KC, Carroll FI, Pert A (1992) Cocaine and GBR12909 produce equivalent motoric responses at different occupancy of the dopamine transporter. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 43: 1135-1142.
- Routledge C (1996) Development of 5-HT_{1A} receptor antagonists. *Behav.Brain Res.* 73: 153-156.
- Rueter LE, Jacobs BL (1996) A microdialysis examination of serotonin release in the rat forebrain induced by behavioral/ environmental manipulations. *Brain Res.* 739: 57-69.
- Rueter LE, Fornal CA, Jacobs BL (1997) A critical review of 5-HT brain microdialysis and behavior. *Rev.Neurosci.* 8: 117-137.
- Rutter JJ, Gundlach C, Auerbach SB (1995) Systemic uptake inhibition decreases serotonin release via somatodendritic autoreceptor activation. *Synapse* 20: 225-233.
- Rutter JJ, Baumann MH, Waterhouse BD (1998) Systemically administered cocaine alters stimulus-evoked responses of thalamic somatosensory neurons to perithreshold vibrissae stimulation. *Brain Res.* 798: 7-17.
- Salamone JD (1994) The involvement of nucleus accumbens dopamine in appetitive and aversive motivation. *Behav.Brain Res.* 61: 117-133.
- Salamone JD (1996) The behavioral neurochemistry of motivation: methodological and conceptual issues in studies of the dynamic activity of nucleus accumbens dopamine. *J.Neurosci.Methods* 64: 137-149.
- Salamone JD, Cousins MS, Snyder BJ (1997) Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 21: 341-359.
- Salamone JD, Correa M (2002) Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behav. Brain Res.* 137: 3-25.
- Sanchez C, Arnt J, Moltzen E (1996) Assessment of relative efficacies of 5-HT_{1A} receptor ligands by means of in vivo animal models. *Eur.J.Pharmacol.* 315: 245-254.
- Sarnyai Z, Sibille EL, Pavlides C, Fenster RJ, McEwan BS, Toth M (2000) Impaired hippocampal-dependent learning and functional abnormalities in the hippocampus in mice lacking serotonin_{1A} receptors. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 97: 14731-14736.

- Satel SL, Krystal JH, Delgado PL, Kosten TR, Charney DS (1995) Tryptophan depletion and attenuation of cue-induced craving for cocaine. *Am.J.Psychiatry* 152: 778-783.
- Scheel-Krüger J, Braestrup C, Nielson M, Golembiowska K, Mogilnicka E (1977) Cocaine: discussion of the role of dopamine in the biochemical mechanism of action. In: *Advances in Behavioral Biology: Cocaine and other Stimulants* (Ellinwood EH, Kilbey MM, eds), pp 373-407. New York: Plenum Press.
- Schmelzeis MC, Mittleman G (1996) The hippocampus and reward: effects of hippocampal lesions on progressive-ratio responding. *Behav.Neurosci.* 110: 1049-1066.
- Schreiber R, De Vry J (1993) Studies on the neuronal circuits involved in the discriminative stimulus effects of 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor agonists in the rat. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 265: 572-579.
- Schreiber R, Brocco M, Lefebvre-de-Ladonchamps B, Monneyron S, Millan MJ (1995) A drug discrimination analysis of the actions of novel serotonin_{1A} receptor ligands in the rat using the 5-HT_{1A} receptor agonist, 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 275: 822-831.
- Schuelke GS, Konkol RJ, Terry LC, Madden JA (1996) Effect of cocaine metabolites on behavior: possible neuroendocrine mechanisms. *Brain Res.Bull.* 39: 43-48.
- Schultz W (1998) Predictive reward signal of dopamine neurons. *J.Neurophysiol.* 80: 1-27.
- Schultz W (2000) Multiple reward signals in the brain. *Nat.Rev.Neurosci.* 1: 199-207.
- Schwartz R, Carey RJ (1985) Deficits in inhibitory avoidance after neurotoxic lesions of the ventral striatum are neurochemically and behaviorally selective. *Behav.Brain Res.* 18: 279-283.
- Schwartz RK, Thiel CM, Müller CP, Huston JP (1998) Relationship between anxiety and serotonin in the ventral striatum. *Neuroreport* 9: 1025-1029.
- Segal M, Azmitia EC, Whitaker-Azmitia PM (1989) Physiological effects of selective 5-HT_{1a} and 5-HT_{1b} ligands in rat hippocampus: comparison to 5-HT. *Brain Res.* 502: 67-74.
- Segal M (1990a) Serotonin and local circuits in rat hippocampus. *J.Basic Clin.Physiol.Pharmacol.* 1: 77-86.
- Segal M (1990b) Serotonin attenuates a slow inhibitory postsynaptic potential in rat hippocampal neurons. *Neurosci.* 36: 631-641.
- Seibell PJ, Demarest J, Rhoads DE (2003) 5-HT(1A) receptor activity disrupts spontaneous alternation behavior in rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 74: 559-564.

- Selden NR, Everitt BJ, Jarrad LE, Robbins TW (1991) Complementary roles for the amygdala and hippocampus in aversive conditioning to explicit and contextual cues. *Neurosci.* 42: 335-350.
- Sesack SR, Pickel VM (1990) In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. *Brain Res.* 527: 266-279.
- Sharp T, Bramwell SR, Clark D, Grahame-Smith DG (1989a) In vivo measurement of extracellular 5-hydroxytryptamine in hippocampus of the anaesthetized rat using microdialysis: changes in relation to 5-hydroxytryptaminergic neuronal activity. *J.Neurochem.* 53: 234-240.
- Sharp T, Bramwell SR, Grahame-Smith DG (1989b) 5-HT₁ agonists reduce 5-hydroxytryptamine release in rat hippocampus in vivo as determined by brain microdialysis. *Br.J.Pharmacol.* 96: 283-290.
- Sharp T, Hjorth S (1990) Application of brain microdialysis to study the pharmacology of the 5-HT_{1A} autoreceptor. *J.Neurosci.Methods* 34: 83-90.
- Shen AY, Tsai CT (1995) Neural connection from hippocampus to nucleus accumbens and the subpallidal area and their contribution to locomotor activity. *Chin.J.Physiol.* 38: 111-116.
- Shim I, Javaid J, Wirtshafter D (1997) Dissociation of hippocampal serotonin release and locomotor activity following pharmacological manipulations of the median raphe nucleus. *Behav.Brain Res.* 89: 191-198.
- Shippenberg TS (1991) Conditioned reinforcing effects of 8-hydroxy-2-(di-N-propylamino) tetralin: involvement of 5-hydroxytryptamine 1A and D1 dopamine receptors. *Neurosci.Lett.* 121: 136-138.
- Sibille E, Pavlides C, Benke D, Toth M (2000) Genetic inactivation of the Serotonin(1A) receptor in mice results in downregulation of major GABA(A) receptor alpha subunits, reduction of GABA(A) receptor binding, and benzodiazepine-resistant anxiety. *J.Neurosci.* 20: 2758-2765.
- Sinton CM, Fallon SL (1988) Electrophysiological evidence for a functional differentiation between subtypes of the 5-HT₁ receptor. *Eur.J.Pharmacol.* 157: 173-181.
- Smith DA, Browning M, Dunwiddie TV (1993) Cocaine inhibits hippocampal long-term potentiation. *Brain Res.* 608: 259-265.
- Smith JA, Mo Q, Guo H, Kunko PM, Robinson SE (1995) Cocaine increases extraneuronal levels of aspartate and glutamate in the nucleus accumbens. *Brain Res.* 683: 264-269.
- Snyder SH (1970) Putative neurotransmitters in the brain: selective neuronal uptake, subcellular localization, and interactions with centrally acting drugs. *Biol.Psychiatry* 2: 367-389.

- Sora I, Hall FS, Andrews AM, Itokawa M, Li XF, Wei HB, Wichems C, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR (2001) Molecular mechanisms of cocaine reward: combined dopamine and serotonin transporter knockouts eliminate cocaine place preference. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 98: 5300-5305.
- Spanagel R, Weiss F (1999) The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends Neurosci.* 22: 521-527.
- Sprouse JS, Aghajanian GK (1987) Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. *Synapse* 1: 3-9.
- Sprouse JS, Aghajanian GK (1988) Responses of hippocampal pyramidal cells to putative serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists: a comparative study with dorsal raphe neurons. *Neuropharmacol.* 27: 707-715.
- Squire LR, Knowlton BJ (1995) Memory, Hippocampus, and Brain Systems. In: *The Cognitive Neurosciences* (Gazzaniga MS, ed), pp 825-837. Cambridge, MA: MIT Press.
- Stamford JA, Davidson C, McLaughlin DP, Hopwood SE (2000) Control of dorsal raphe 5-HT function by multiple 5-HT₁ autoreceptors: parallel purposes or pointless plurality? *Trends Neurosci.* 23 : 459-465.
- Stancampiano R, Cocco S, Cugusi C, Sarais L, Fadda F (1999) Serotonin and acetylcholine release response in the rat hippocampus during a spatial memory task. *Neurosci.* 89: 1135-1143.
- Stanhope KJ, Dourish CT (1996) Effects of 5-HT_{1A} receptor agonists, partial agonists and a silent antagonist on the performance of the conditioned emotional response test in the rat. *Psychopharmacol.* 128: 293-303.
- Stein EA, Fuller SA (1992) Selective effects of cocaine on regional cerebral blood flow in the rat. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 262: 327-334.
- Stewart DJ, Inaba T, Tang BK, Kalow W (1977) Hydrolysis of cocaine in human plasma by cholinesterase. *Life Sci.* 20: 1557-1564.
- Stewart DJ, Inaba T, Lucassen M, Kalow W (1979) Cocaine metabolism: cocaine and norcocaine hydrolysis by liver and serum esterases. *Clin.Pharmacol.Ther.* 25: 464-468.
- Sur C, Betz H, Schloss P (1996) Immunocytochemical detection of the serotonin transporter in rat brain. *Neurosci.* 73: 217-231.
- Svingos AL, Hitzemann R (1992) 5-HT₃ receptor antagonists block cocaine-induced locomotion via a PCPA-sensitive mechanism. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 43: 871-879.
- Swanson CJ, Kalivas PW (2000) Regulation of locomotor activity by metabotropic glutamate receptors in the nucleus accumbens and ventral tegmental area. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 292: 406-414.

- Swanson LW, Köhler C, Björklund A (1987) The limbic region. I: The septohippocampal system. In: Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol 5: Integrated Systems of the CNS (Björklund A, Hökfeld T, Swanson LW, eds), pp 125-277. Amsterdam: Elsevier.
- Szabo ST, Blier P (2001) Serotonin (1A) receptor ligands act on norepinephrine neuron firing through excitatory amino acid and GABA(A) receptors: a microiontophoretic study in the rat locus coeruleus. *Synapse* 42: 203-212.
- Takahashi H, Takada Y, Nagai N, Urano T, Takada A (2000) Serotonergic neurons projecting to hippocampus activate locomotion. *Brain Res.* 869: 194-202.
- Takahashi H, Takada Y, Urano T, Takada A (2002) 5-HT₄ receptors in the hippocampus modulate rat locomotor activity. *Hippocampus* 12: 304-310.
- Tatum AL, Seevers MH (1929) Experimental cocaine addiction. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 36: 401-410.
- Teneud LM, Baptista T, Murzi E, Hoebel BG, Hernandez L (1996) Systemic and local cocaine increase extracellular serotonin in the nucleus accumbens. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 53: 747-752.
- Thiel CM, Huston JP, Schwarting RK (1998) Hippocampal acetylcholine and habituation learning. *Neurosci.* 85: 1253-1262.
- Thiel CM, Huston JP, Schwarting RK (1998) Cholinergic activation in frontal cortex and nucleus accumbens related to basic behavioral manipulations: handling, and the role of post-handling experience. *Brain Res.* 812: 121-132.
- Thiel CM, Müller CP, Huston JP, Schwarting RK (1999) High versus low reactivity to a novel environment: behavioural, pharmacological and neurochemical assessments. *Neurosci.* 93: 243-251.
- Thiel CM (1999) Zur Neurochemie des Verhaltens: Acetylcholin, Motivation und die Rolle von Erfahrung. Berlin: dissertation.de.
- Thomas DN, Post RM, Pert A (1994) Focal and systemic cocaine differentially affect extracellular norepinephrine in the locus coeruleus, frontal cortex and hippocampus of the anaesthetized rat. *Brain Res.* 645: 135-142.
- Törk I (1985) Raphe nuclei and serotonin containing systems. In: *The Rat Nervous System* (Paxinos G, ed), pp 43-78. San Diego: Academic Press.
- Tricklebank MD, Forler C, Fozard JR (1984) The involvement of subtypes of the 5-HT₁ receptor and of catecholaminergic systems in the behavioural response to 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin in the rat. *Eur.J.Pharmacol.* 106: 271-282.
- Tricklebank MD, Middlemiss DN, Neill J (1986) Pharmacological analysis of the behavioural and thermoregulatory effects of the putative 5-HT₁ receptor agonist, RU 24969, in the rat. *Neuropharmacol.* 25: 877-886.

- Tzschentke TM (1998) Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Prog.Neurobiol.* 56: 613-672.
- Ungerstedt U (1984) Measurement of neurotransmitter release by intracranial dialysis. In: *Measurement of Neurotransmitter Release in vivo* (Marsden CA, ed), pp 81-105. New York: Wiley.
- Ungerstedt U (1991) Introduction to intracerebral microdialysis. In: *Microdialysis in the Neurosciences* (Robinson TE, Justice JB, eds), pp 3-22. Amsterdam: Elsevier.
- Ungless MA, Whistler JL, Malenka RC, Bonci A (2001) Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons. *Nature* 411: 583-587.
- Ursin R, Ursin H, Olds J (1966) Self-stimulation of hippocampus in rats. *J.Comp.Physiol.Psychol.* 61: 353-359.
- Van der Kooy D, Fibiger HC, Phillips AG (1977) Monoamine involvement in hippocampal self-stimulation. *Brain Res.*136: 119-130.
- Van Bockstaele EJ, Chan J, Pickel VM (1996) Pre- and postsynaptic sites for serotonin modulation of GABA-containing neurons in the shell region of the rat nucleus accumbens. *J.Comp.Neurol.* 371: 116-128.
- Van Bockstaele EJ, Pickel VM (1993) Ultrastructure of serotonin-immunoreactive terminals in the core and shell of the rat nucleus accumbens: cellular substrates for interactions with catecholamine afferents. *J.Comp.Neurol.* 334: 603-617.
- Van der Hoek GA, Cooper SJ (1990) Evidence that ondansetron, a selective 5-HT antagonist, reduces cocaine's psychomotor stimulant effects in the rat. *Psychopharmacol.* 101(Suppl.): S59.
- Van der Maelen CP, Aghajanian GK (1983) Electrophysiological and pharmacological characterization of serotonergic dorsal raphe neurons recorded extracellularly and intracellularly in rat brain slices. *Brain Res.* 289: 109-119.
- Van Dyke C, Barash PG, Jatlow P, Byck R (1976) Cocaine: plasma concentrations after intranasal application in man. *Science* 191: 859-861.
- Van Dyke C, Jatlow P, Ungerer J, Barash PG, Byck R (1978) Oral cocaine: plasma concentrations and central effects. *Science* 200: 211-213.
- Van Hooft JA, Vijverberg HP (2000) 5-HT₃ receptors and neurotransmitter release in the CNS: a nerve ending story? *J.Neurosci.* 23: 605-610.
- Van Rossum JM, Simons F (1969) Locomotor activity and anorexigenic action. *Psychopharmacologia* 14: 248-254.

- Van Treeck B (1997) Partydrogen. Berlin: Schwarzkopf & Schwarzkopf.
- Vanderwolf, CW (1989) A general role for serotonin in the control of behavior: studies with intracerebral 5,7-dihydroxytryptamine. *Brain Res.* 504: 192-198.
- Verge D, Daval G, Marcinkiewicz M, Patey A, El-Mestikawy S, Gozlan H, Hamon M (1986) Quantitative autoradiography of multiple 5-HT₁ receptor subtypes in the brain of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats. *J.Neurosci.* 6: 3474-3482.
- Volkow ND, Hitzemann R, Wang GJ, Fowler JS, Wolf AP, Dewey SL, Handlesman L (1992) Long-term frontal brain metabolic changes in cocaine abusers. *Synapse* 11: 184-190.
- Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ (2002) Role of dopamine in drug reinforcement and addiction in humans: results from imaging studies. *Behav.Pharmacol.* 13: 355-366.
- Vorel SR, Liu X, Hayes RJ, Spector JA, Gardner EL (2001) Relapse to cocaine-seeking after hippocampal theta burst stimulation. *Science* 292: 1175-1178.
- Wallenstein GV, Eichenbaum H, Hasselmo ME (1998) The hippocampus as an associator of discontinuous events. *Trends Neurosci.* 21: 317-323.
- Walsh SL, Preston KL, Sullivan JT, Fromme R, Bigelow GE (1994) Fluoxetine alters the effects of intravenous cocaine in humans. *J.Clin.Psychopharmacol.* 14: 396-407.
- Walsh SL, Cunningham KA (1997) Serotonergic mechanisms involved in the discriminative stimulus, reinforcing and subjective effects of cocaine. *Psychopharmacol.* 130: 41-58.
- Welker WJ (1957) Escape, exploratory, and food-seeking responses in a novel situation. *J.Comp.Physiol.Psychol.* 52: 106-111.
- West CH, Michael RP (1990) Responses of units in the mesolimbic system to olfactory and somatosensory stimuli: modulation of sensory input by ventral tegmental stimulation. *Brain Res.* 532: 307-316.
- Westerink BH, Hofsteede HM, Damsma G, de Vries JB (1988) The significance of extracellular calcium for the release of dopamine, acetylcholine and amino acids in conscious rats, evaluated by brain microdialysis. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 337: 373-378.
- Westerink BH, de Vries JB (1988) Characterization of in vivo dopamine release as determined by brain microdialysis after acute and subchronic implantations: methodological aspects. *J.Neurochem.* 51: 683-687.
- Westerink BH (1995) Brain microdialysis and its application for the study of animal behaviour. *Behav.Brain Res.* 70: 103-124.

- White FJ (1990) Electrophysiological basis of the reinforcing effects of cocaine. *Behav.Pharmacol.* 1: 303-315.
- White FJ, Hu XT, Henry DJ (1993) Electrophysiological effects of cocaine in the rat nucleus accumbens: microiontophoretic studies. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 266: 1075-1084.
- Wilkinson LS, Humby T, Killcross S, Robbins TW, Everitt BJ (1996) Dissociations in hippocampal 5-hydroxytryptamine release in the rat following Pavlovian aversive conditioning to discrete and contextual stimuli. *Eur.J.Neurosci.* 8: 1479-1487.
- Williams GV, Rolls ET, Leonard CM, Stern C (1993) Neuronal responses in the ventral striatum of the behaving macaque. *Behav.Brain Res.* 55: 243-252.
- Willins DL, Meltzer HY (1998) Serotonin 5-HT_{2C} agonists selectively inhibit morphine-induced dopamine efflux in the nucleus accumbens. *Brain Res.* 781: 291-299.
- Wilson WJ (1983) Nucleus accumbens inhibits specific motor but not nonspecific classically conditioned responses. *Brain Res Bull.* 10: 505-515.
- Wise RA (1980) The dopamine synapse and the notion of 'pleasure centers' in the brain. *Trends Neurosci.* 1: 91-95.
- Wise RA, Bozarth MA (1987) A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol.Rev.* 94: 469-492.
- Wise RA, Rompre PP (1989) Brain dopamine and reward. *Ann.Rev.Psychol.* 40: 191-225.
- Wise RA (1994) A brief history of the anhedonia hypothesis. In: *Appetite: Neural and Behavioural Base* (Legg CR, Both DA, eds), pp 234-263. Oxford: Oxford University Press.
- Wise RA (1998) Drug-activation of brain reward pathways. *Drug Alcohol Depend.* 51: 13-22.
- Wolf ME (1998) The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. *Prog.Neurobiol.* 54: 679-720.
- Wolf WA, Youdim MB, Kuhn DM (1985) Does brain 5-HIAA indicate serotonin release or monoamine oxidase activity? *Eur.J.Pharmacol.* 109: 381-387.
- Woolverton WL, Johnson KM (1992) Neurobiology of cocaine abuse. *Trends Pharmacol.Sci.* 13: 193-200.
- Wu M, Brudzynski SM (1995) Mesolimbic dopamine terminals and locomotor activity induced from the subiculum. *Neuroreport* 6: 1601-1604.

- Yadin E, Friedman E, Bridger WH (1991) Spontaneous alternation behavior: an animal model for obsessive-compulsive disorder? *Pharmacol.Biochem.Behav.* 40: 311-315.
- Yang CR, Mogenson GJ (1984) Electrophysiological responses of neurones in the nucleus accumbens to hippocampal stimulation and the attenuation of the excitatory responses by the mesolimbic dopaminergic system. *Brain Res.* 324: 69-84.
- Yang CR, Mogenson GJ (1985) An electrophysiological study of the neural projections from the hippocampus to the ventral pallidum and the subpallidal areas by way of the nucleus accumbens. *Neurosci.* 15: 1015-1024.
- Yang CR, Mogenson GJ (1986) Dopamine enhances terminal excitability of hippocampal-accumbens neurons via D2 receptor: role of dopamine in presynaptic inhibition. *J.Neurosci.* 6: 2470-2478.
- Yang XM, Gorman AL, Dunn AJ, Goeders NE (1992) Anxiogenic effects of acute and chronic cocaine administration: neurochemical and behavioral studies. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 41: 643-650.
- Ye JH, Liu PL, Wu WH, McArdle JJ (1997) Cocaine depresses GABAA current of hippocampal neurons. *Brain Res.* 770: 169-175.
- Yim CY, Mogenson GJ (1982) Response of nucleus accumbens neurons to amygdala stimulation and its modification by dopamine. *Brain Res.* 239: 401-415.
- Zaborszky L, Alheid GF, Beinfeld MC, Eiden LE, Heimer L, Palkovits M (1985) Cholecystokinin innervation of the ventral striatum: a morphological and radioimmunological study. *Neurosci.* 14: 427-453.
- Zaborszky L, Cullinan WE (1992) Projections from the nucleus accumbens to cholinergic neurons of the ventral pallidum: a correlated light and electron microscopic double-immunolabeling study in rat. *Brain Res.* 570: 92-101.
- Zahm DS, Heimer L (1990) Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens. *J.Comp.Neurol.* 302: 437-446.
- Zahm DS, Brog JS (1992) On the significance of subterritories in the "accumbens" part of the rat ventral striatum. *Neurosci.* 50: 751-767.
- Zahm DS (2000) An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 24: 85-105.
- Zangen A, Nakash R, Yadid G (1999) Serotonin-mediated increases in the extracellular levels of beta-endorphin in the arcuate nucleus and nucleus accumbens: a microdialysis study. *J.Neurochem.* 73: 2569-2574.

- Zetterström T, Sharp T, Marsden CA, Ungerstedt U (1983) In vivo measurement of dopamine and its metabolites by intracerebral dialysis: changes after d-amphetamine. *J.Neurochem.* 41: 1769-1773.
- Zhang WN, Bast T, Feldon J (2002) Effects of hippocampal N-methyl-D-aspartate infusion on locomotor activity and prepulse inhibition: differences between the dorsal and ventral hippocampus. *Behav.Neurosci.* 116: 72-84.
- Zimmermann PK, Wagner U, Krauth J, Huston JP (1997) Unilateral lesion of dorsal hippocampus enhances reinforcing lateral hypothalamic stimulation in the contralateral hemisphere. *Brain Res.Bull.* 44: 265-271.
- Zuckerman M (1996) The psychobiological model for impulsive unsocialized sensation seeking: a comparative approach. *Neuropsychobiol.* 34: 125-129.

6 Anhang

6.1 Reinigung und Inbetriebnahme der HPLC-Anlage

Vor dem Einbau der einzelnen Bestandteile der HPLC-Trennstrecke, d.h. von Trennsäule und EC-Zelle, müssen die metallischen Verbindungsschläuche und das Injektionsventil der HPLC-Anlage chemisch gereinigt werden. Eine chemische Reinigung kann auch während der Messungen notwendig werden. Nach der Außerbetriebnahme der HPLC-Anlage am Ende einer Versuchsreihe wird ebenfalls die beschriebene Reinigungsprozedur durchgeführt.

Tab. 1. Für die Reinigungsprozedur benötigte Lösungen.

300ml	dest. H ₂ O (gefiltrert)
300ml	HNO ₃ -Lösung (100 ml HNO ₃ , 65%ig, in 200 ml dest. H ₂ O)
300ml	Acetonitril-Lösung (30 ml Acetonitril in 270 ml dest. H ₂ O, gefiltert)

Vor Beginn der Reinigung muss sichergestellt werden, dass die EC-Zelle und die HPLC-Trennsäule aus der HPLC-Anlage ausgebaut sind. Die Reinigungsprozedur könnte diesen hoch empfindlichen Bauteilen schaden. Um die in den Leitungen verbliebene mobile Phase zu entfernen, wird die Anlage bei einer Fließgeschwindigkeit der Pumpe von 5 ml/min etwa 10 Minuten mit dest. H₂O ausgewaschen. Dann wird die Anlage mit 50 ml HNO₃-Lösung durchgespült, wobei das Injektionsventil des Autoinjektors bzw. das Handinjektions-Ventil geöffnet und geschlossen wird. Nach HNO₃ wird erneut mit etwa 50-100 ml dest. H₂O so lange gewaschen, bis die austretende Flüssigkeit einen pH>3 aufweist. Zum Schluss wird mit 100 ml Acetonitril-Lösung gespült. Bei der Außerbetriebnahme der HPLC verbleibt Acetonitril in den Verbindungsschläuchen der HPLC.

6.2 Nissl-Färbung mit gepuffertem Kresylviolett

Tab. 2. Chemikalienliste und Herstellung verschiedener Lösungen für eine Nissl-Färbung mit gepuffertem Kresylviolett (pH=3.5).

Chemikalien: Kresylviolett (Merck, Deutschland)
 Natriumacetat
 Essigsäure 99%ig
 Ethylalkohol
 Xylol
 DePeX

Ansetzen der Lösungen:

Stammlösung:	1000 ml	dest. H ₂ O
(Farblösung)	3.1 ml	Essigsäure (99%ig)
	0.235 g	Natriumacetat
	1.0 g	Kresylviolett
Pufferlösung:	1000 ml	dest. H ₂ O
	3.1 ml	Essigsäure (99%ig)
	0.235 g	Natriumacetat
Gebrauchslösungen:	250 ml	Stammlösung
	750 ml	Pufferlösung

Stamm- und Pufferlösung wurden unter stetigem Rühren im Erlenmeyerkolben hergestellt und können in einer Vorratsflasche bei Raumtemperatur gelagert werden. Die Farblösung ist vor Verwendung bzw. Lagerung zu filtrieren.

Tab. 3. Verweilzeiten für den Färbevorgang bei einer Nissl-Färbung mit Kresylviolett.

10 min	95%iger Alkohol
2 min	80%iger Alkohol
2 min	70%iger Alkohol
2 min	dest. H ₂ O
10 min	Kresylviolett (Gebrauchslösung)
30 sek	dest. H ₂ O
1 min	70%iger Alkohol
1 min	80%iger Alkohol
2 min	95%iger Alkohol
2 min	100%iger Alkohol
5 min	Xylol

Die Objektträger verbleiben bis zum Abdecken mittels DeTeX und Deckgläsern in Xylol.

6.3 Gelatinisieren der Objektträger

Tab. 4. Chemikalien für die Gelatinisierung von Objektträgern.

Chemikalien:	1 g	Gelatine (Merck)
	0.5 g	Chromalaun (Chrom(III)Kaliumsulfat Dodecahydrat)

Unter Rühren und Erwärmung wird 1 g Gelatine in 200 ml dest. H₂O gelöst. Danach lässt man es auf Raumtemperatur abkühlen. Ebenfalls unter Rühren werden 0.5 g Chromalaun in 100 ml dest. H₂O gelöst. Wenn die Gelatine abgekühlt ist, werden beide Lösungen gemischt. Die Objektträger werden kurz in die Lösung eingetaucht und dann bei 60°C im Ofen getrocknet.

6.4 Perfusionsflüssigkeiten für die transcardiale Perfusion

Tab. 5. Chemikalien für die Herstellung der 4%igen phosphatgepufferten Formalin-Lösung mit 10% Sucrose.

Chemikalien: 9 g NaCl
 4 g Na₂HPO₄
 100 g Sucrose
 100 ml Formalin (37%ig)

Die Chemikalien werden unter Rühren in dest. H₂O gelöst und auf 1 Liter aufgefüllt.